

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1928-1929.

N° 13.

RECHERCHES SUR LA PERCOLATION

Sur la rapidité de la dissolution
des principes immédiats au cours de la percolation.

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

Présentée et soutenue le 1929.

PAR

Madeleine DESMAREST

PHARMACIEN

EX-INTERNE DES HÔPITAUX DE PARIS

EX-ASSISTANTE SUPPLÉANTE AU LABORATOIRE DE PHYSIQUE VÉGÉTALE
DU MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE.

JURY { MM. BOUGAULT, Président.
BRIDEL, Professeur.
HÉRISSEY, Agrégé.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE LUCIEN DECLUME

—
1929

UNIVERSITÉ DE PARIS

FACULTÉ DE PHARMACIE

Année 1928-1929.

N° 13.

RECHERCHES SUR LA PERCOLATION

Sur la rapidité de la dissolution
des principes immédiats au cours de la percolation.

THÈSE

pour l'obtention du diplôme de Docteur de l'Université de Paris
(Pharmacie)

Présentée et soutenue le

1929.

PAR

Madeleine DESMAREST

PHARMACIEN

EX-INTERNE DES HÔPITAUX DE PARIS

EX-ASSISTANTE SUPPLÉANTE AU LABORATOIRE DE PHYSIQUE VÉGÉTALE
DU MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE.

JURY { MM. BOUGAULT, Président.
BRIDEL, Professeur.
HÉRISSEY, Agrégé.

LONS-LE-SAUNIER

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE LUCIEN DECLUME

—
1929

PERSONNEL DE LA FACULTÉ DE PHARMACIE

ADMINISTRATION

MM. RADAIS, Doyen, O. *, I.
 PERROT, Assesseur, O. *, I.
 G. DURSENT, Secrétaire, *, I.

PROFESSEURS

MM. RADAIS, O. *, I.	Cryptogamie et Micro- biologie.
BÉHAL, Membre de l'Institut, C. *, I.	Chimie organique.
PERROT, O. *, I.	Histoire naturelle des Médicaments.
COUTIÈRE, O. *, I.	Zoologie.
GRIMBERT, *, I.	Chimie biologique.
LEBEAU, O. *, I.	Pharmacie chimique.
DELÉPINE, O. *, I.	Hydrologie et Hygiène.
GUERBET, *, I.	Toxicologie.
BOUGAULT, *, I.	Chimie analytique.
GORIS, *, I.	Pharmacie galénique.
GUÉRIN, *, I.	Botanique générale.
TASSILLY, *, I.	Physique.
DAMIENS, *, I.	Chimie minérale.

Professeur honoraire : M. A. VILLIERS, *, I.

CHARGÉS DE COURS

MM. SOMMELET, *, I.	Minéralogie.
Marc HONNORAT, *, I.	Législation et Déontologie pharmaceutiques.
LUTZ, *, I.	Cryptogamie.

AGRÉGÉS EN EXERCICE

MM. SOMMELET, *, I.	MM. HÉRISSEY, *, I.	MM. MASCRÉ, I.
LUTZ, *, I.	DELABY *, A.	FLEURY, I.
LAUNOY, O. *, I.	PICON, I.	BACH, I.
	FABRE, A.	

CHEFS DES TRAVAUX PRATIQUES

MM. DEFACQZ, *, I.	Chimie générale.
SOMMELET, *, I, FABRE, A, <i>agrégés</i> , chargés des travaux de	Chimie analytique.
SOUÈGES, I.	Micrographie
LEROUX, I.	Physique.
DEVAL, I.	Microbiologie.
HÉRISSEY, *, I. DELABY, *, A. et PICON, I. <i>agrégés</i> , chargés des Travaux généraux de 4 ^e année.	

Bibliothécaire en Chef : M. BEAULIEUX, I.



A MONSIEUR LE PROFESSEUR BOUGAULT,

PROFESSEUR A LA FACULTÉ DE PHARMACIE,
PHARMACIEN-CHEF A L'HÔPITAL DE LA CHARITÉ,
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR.

Hommage de respect et de reconnaissance.

A MONSIEUR LE PROFESSEUR BRIDEL,
PROFESSEUR AU MUSÉUM D'HISTOIRE NATURELLE,
PHARMACIEN-CHEF DE L'HÔPITAL LARIBOSIÈRE,
CHEVALIER DE LA LÉGION D'HONNEUR.

Hommage de respect et de reconnaissance.

A MES PARENTS.

Témoignage d'affection et de reconnaissance.

INTRODUCTION.

En 1925, M. BRIDEL et Mlle G. BAREL ont montré que la durée de la percolation pouvait être très fortement diminuée et qu'il était possible d'obtenir en 24 heures, une teinture renfermant la même quantité de principes actifs qu'une teinture préparée conformément aux indications de la Pharmacopée française, c'est-à-dire en 6 à 7 jours. Ils ont fait leurs essais sur l'aconit et l'ipéca [10] et Mlle BAREL a appliqué ensuite le même mode opératoire aux préparations d'hydrastis, de quinquina jaune et de quinquina rouge [1].

Aussi M. BRIDEL et Mlle BAREL ont-ils proposé les conclusions suivantes à la suite de leurs travaux sur ces cinq drogues :

1° Maintenir l'humectation préalable de la poudre avec le dissolvant.

2° La poudre étant dans le percolateur, supprimer la macération de 1 à 4 jours prévue par le Codex.

3° Lixivier immédiatement et recueillir, en 24 heures, la totalité de la colature.

Par ce procédé on peut obtenir, du jour au lendemain, une teinture par lixiviation alors que par le procédé du Codex il faut plus d'une semaine. L'évaporation de l'alcool

au cours de l'opération, l'immobilisation des appareils se trouvaient ainsi diminuées de 85 p. 100 environ. Les avantages matériels de ce nouveau procédé étaient donc indiscutables.

D'autre part, M. BRIDEL, en 1911, a montré qu'il est possible avec une poudre de gentiane n'ayant subi aucune fermentation, d'obtenir une teinture renfermant la presque totalité du glucoside existant dans la poudre. Il suffit, pour cela, de remplacer la macération de 10 jours prescrite par la Pharmacopée par une lixiviation de 6 à 7 jours.

Le résultat tenait vraisemblablement à ce que le gentiopicroside était rapidement dissous et soustrait ainsi à l'action du ferment.

En rapprochant ces données, il nous a paru que la dissolution des principes solubles devait se faire au cours de la percolation plus rapidement encore que M. BRIDEL et Mlle G. BAREL ne le supposaient.

Pour démontrer expérimentalement ce fait, nous avons estimé qu'il convenait de s'adresser à des produits renfermant à la fois des diastases et des principes hydrolysables par ces diastases : sucres et glucosides. Nous avons choisi les 3 poudres suivantes : tourteau d'amande amère, tourteau de coton et poudre de gentiane séchée à l'air sans fermentation.

Le travail a été ainsi divisé.

A. — Dans un premier chapitre, on trouvera les expériences relatives au tourteau d'amande amère.

1° Lixiviation sur 500 g. de tourteau.

Obtention de l'amygdaloside et de l'émulsine.

Caractéristiques de ces produits.

2° Lixiviation sur 6 kg. de tourteau.

- B. — Dans le deuxième chapitre se trouvent les expériences sur le tourteau de coton et un nouveau procédé d'extraction du raffinose.
- C. — Troisième chapitre : poudre de gentiane séchée sans fermentation.

Ce chapitre comprend 4 subdivisions :

- 1° Composition de la racine fraîche de gentiane.
 - 2° Composition de la racine séchée à l'air sans fermentation.
 - α) Traitement par l'alcool à 70° : épuisement à l'alcool bouillant et lixiviation à froid.
 - β) Traitement par l'alcool à 90° : épuisement à l'alcool bouillant et lixiviation à froid.
 - γ) Traitement par l'alcool à 95° : épuisement à l'alcool bouillant et lixiviation à froid.
 - 3° Préparation du gentianose à partir de la racine sèche.
 - 4° Conclusions.
- D. — Un quatrième chapitre sera réservé aux conclusions générales.

Avant d'entreprendre l'exposé de ce travail, je tiens à assurer M. le Professeur BRIDEL de ma profonde reconnaissance. Je lui sais gré des encouragements continuels qu'il m'a donnés au cours de ces recherches effectuées dans son laboratoire, c'est à lui que je dois de les avoir menées à bien. Je n'oublierai jamais que, depuis le début de mon internat, ce maître distingué n'a cessé de me prodiguer des marques de bonté et de grande bienveillance. Qu'il trouve ici ma profonde admiration et toute ma gratitude.

Je remercie M. le Professeur BOUGAULT d'avoir accepté la présidence de cette thèse. Je lui exprime ma reconnaissance entière pour l'intérêt qu'il m'a porté au cours de mes années d'internat à l'hôpital La Charité et pour les conseils éclairés qu'il m'a donnés.

Je remercie également M. le Professeur agrégé HÉRISSEY d'avoir bien voulu accepter de faire partie de mon jury de thèse.

J'adresse mes remerciements à M. TOULET, mon pharmacien de stage, pour les excellents principes qu'il m'a inculqués au début de mes études et je lui en exprime toute ma gratitude.

CHAPITRE PREMIER.

Tourteau d'amande amère [¹¹].

1° Lixiviation sur 500 gr. de tourteau.

Les expériences ont été conduites de la façon suivante :

On a d'abord dosé dans le tourteau, le sucre réducteur, le saccharose et l'amygdaloside en opérant suivant la méthode de BOURQUELOT à l'invertine et à l'émulsine sur un liquide obtenu en traitant le tourteau par l'alcool bouillant.

On a traité 50 g. de tourteau pulvérisé par 500 cm³ d'alcool à 70° bouillant. On a maintenu l'ébullition pendant une heure et on a laissé refroidir. On a décanté la solution alcoolique et on a versé sur le résidu 500 cm³ d'alcool à 70°. On a fait bouillir pendant une heure et on a effectué encore deux nouveaux épuisements par 500 cm³ d'alcool à 70°, en décantant à chaque fois. Finalement, on a réuni les quatre liquides alcooliques et on les a distillés à sec, sous pression réduite. On a repris le résidu par de l'eau toluénée et c'est sur ce liquide aqueux qu'on a effectué les dosages.

D'un autre côté, il fallait savoir si, par percolation, on obtenait la totalité des principes existant dans le tourteau ou s'il y avait destruction de ces principes pendant la percolation.

On a humecté 250 g. de tourteau avec 125 g. d'alcool à 70°

et, après deux heures, on a procédé à la percolation de façon à recueillir 2.500 cm³ de colature en 24 heures.

On a distillé 500 cm³ de colature représentant 50 g. de tourteau et on a repris le résidu par de l'eau toluénée. On a dosé, dans ce liquide, les sucres réducteurs, le saccharose et l'amygdaloside.

On peut faire remarquer que, pour 50 g. de tourteau, on a employé 2.000 cm³ d'alcool bouillant et seulement 500 cm³ d'alcool par percolation.

Les résultats des dosages sont réunis dans le tableau suivant qui permet une comparaison facile ; 100 cm³ de liquide aqueux correspondent à 100 g. de tourteau.

TABLEAU I.

	Epuisement par :	
	l'alcool bouillant	percolation à froid
Rotation ($l = 2$) :		
Initiale.....	— 5° 7'	— 4°38'
Après action de l'invertine.....	— 9°36'	— 9°17'
— de l'émulsine.....	+ 58'	+ 1°55'
Sucre réducteur p. 100 cm ³ :		
Initial.....	1 g.,733	1 g.,757
Après action de l'invertine.....	5,386	5,299
— de l'émulsine.....	10,771	11,093
Par l'invertine :		
Changement de rotation.....	4°29'	4°39'
Sucre réducteur formé.....	3 g.,653	3 g.,542
Indice de réduction.....	822	761
Saccharose.....	3 g.,470	3 g.,365
Par l'émulsine :		
Changement de rotation.....	10°34'	11°12'
Sucre réducteur formé.....	5 g.,385	5 g.,794
Indice de réduction.....	519	517
Amygdaloside.....	6 g.,836	7 g.,353

En examinant, dans ce tableau, les chiffres de sucre réducteur après action de l'émulsine, on constate qu'on en obtient plus par percolation que par l'alcool bouillant, 11 g.,093 et 10 g.,771, soit une différence de 0 g.,321.

De même, on obtient plus d'amygdaloside par percolation que par l'alcool bouillant. Cela tient certainement à ce que le résidu de l'épuisement à chaud retient toujours une certaine quantité de liquide, et que ce liquide en dépit de quatre traitements successifs, renferme encore une faible proportion de principes solubles. Dans le procédé par lixiviation, l'épuisement est total.

S'il y a moins de saccharose par percolation que par l'alcool bouillant c'est que ce principe a dû subir une très légère hydrolyse pendant la percolation. Cette hydrolyse est très faible puisqu'on trouve par percolation 3 g.,365 de saccharose, contre 3 g.,470 par l'alcool bouillant.

Ce qu'on doit retenir ici, c'est que, abstraction faite de cette légère destruction du saccharose, le saccharose et l'amygdaloside se retrouvent intégralement dans le liquide obtenu par percolation rapide. Il était donc possible, avec le tourteau d'amande amère, d'étudier la vitesse de la dissolution du saccharose, de l'amygdaloside et des autres principes au cours de la percolation.

Mais avant d'aborder cette étude, on a voulu voir comment se comportent le saccharose et l'amygdaloside en traitant le tourteau par macération par l'alcool à 70°.

On a fait macérer, dans deux flacons, 400 g. de tourteau dans 500 cm³ d'alcool à 70°. On a recueilli le liquide du premier flacon après une macération de 24 heures et celui du second après 10 jours. Les deux liquides présentaient nettement une odeur d'acide cyanhydrique, preuve de l'hydrolyse de l'amygdaloside. Mais on verra combien cette hydrolyse est faible.

On a étudié la composition des liquides d'après le même procédé que précédemment. Les chiffres du Tableau II se

rapportent à des liquides dont 100 cm³ représentent 100 g. de tourteau et sont à comparer avec ceux du Tableau I.

TABLEAU II.

	Macération de	
	24 heures	10 jours
Rotation ($l = 2$) :		
Initiale.....	— 4°12'	— 6°24'
Après action de l'invertine.....	— 6°54'	— 6°24'
— de l'émulsine.....	+ 3°34'	+ 3°32'
Sucre réducteur p. 100 cm ³ :		
Initial.....	2 g.,724	5 g.,828
Après action de l'invertine.....	5,836	6,380
— de l'émulsine.....	10,512	11,344
Par l'invertine :		
Changement de rotation.....	2°42'	»
Sucre réducteur formé.	3 g.,112	0,552
Indice de réduction.	1152	»
Par l'émulsine :		
Changement de rotation.	10°28'	9°56'
Sucre réducteur formé.	4 g.,676	4 g.,964
Indice de réduction.	446	499

Le saccharose est rapidement hydrolysé au cours de la macération du tourteau dans l'alcool à 70°. L'invertine ne provoque plus qu'un changement de rotation de 2° 42' dans le liquide obtenu après macération de 24 heures, au lieu de 4° 39' dans le liquide obtenu par percolation. Dans le macéré de 10 jours, il n'y a pour ainsi dire plus de saccharose. Il n'est donc pas étonnant qu'il y ait une légère perte de saccharose par percolation : elle est due à l'hydrolyse qui s'effectue pendant les deux heures de l'humectation du tourteau et pendant le début de la percolation.

L'amygdaloside résiste bien mieux à l'action de l'émulsine que le saccharose à l'action de la sucrase ; mais il y a néanmoins une hydrolyse puisqu'il ne se forme, sous

l'action de l'émulsine, que 4 g.,676 et 4 g.,964 de sucre réducteur au lieu de 5 g.,794, quantité fournie par le liquide obtenu par percolation.

Cette résistance de l'amygdalosite nous a un peu surpris, car nous pensions que ce glucoside se comporterait ici comme le gentiopicroside au cours de la macération de la poudre de gentiane. L'hydrolyse de l'amygdalosite en solution alcoolique, par l'émulsine, mériterait d'être étudiée en détails.

On a abordé ensuite l'étude de la rapidité de la dissolution des principes immédiats au cours de la percolation. Pour cela, on a effectué sur 500 gr. du même tourteau, une percolation fractionnée comme il est indiqué ci-dessous :

TABLEAU III.

Numéros des fractions	Volume des fractions (en cm ³)	Durée d'écoulement
1	250	1 h. 15'
2	250	1 h. 15'
3	250	1 h. 15'
4	250	1 h. 20'
5	250	1 h. 13'
6	250	1 h. 12'
7	250	1 h. 15'
8	250	1 h. 20'
9	250	1 h. 13'
10	250	1 h. 7'
11	500	2 h. 30'
12	550	5 h. 25'
13	500	2 h. 30'
14	500	2 h. 30'
15	250	1 h.

Soit en tout 4.800 cm³ en 27 heures et demie.

Dans chacune de ces fractions, on a dosé le sucre réducteur, le saccharose et l'amygdalosite, en opérant

comme précédemment. On a dosé également le résidu, sec à + 110°.

On a réuni dans le Tableau IV les résultats obtenus. Les chiffres représentent le poids des principes contenus dans le volume des fractions.

TABLEAU IV.

Numéros	Volume (en cm ³)	Sucre réducteur			Saccha- rose	Amygda- loside
		initial	après invertine	après émulsine		
1	250	3,057	7,525	12,120	4,254	5,831
2	—	1,910	6,785	11,400	4,631	5,856
3	—	1,412	4,727	8,470	3,139	4,749
4	—	1,007	2,872	6,395	1,771	4,470
5	—	0,790	1,720	4,845	0,883	3,965
6	—	0,585	1,050	4,317	0,441	4,145
7	—	0,350	0,555	2,982	0,194	3,079
8	—	0,202	0,202	2,117	»	2,430
9	—	0,080	0,080	1,220	»	1,446
10	—	0,060	0,060	0,377	»	0,405
11-15	2.300	0,084	0,090	0,122	0,005	0,040
Total....	4.800	9,537	25,686	54,365	15,328	36,416
Dans 500 g de tourteau..		8,785	26,495	55,465	16,825	36,765

Par repos de plusieurs mois, l'amygdalosite a cristallisé dans les fractions 2, 3, 4 et 5 : il se trouvait donc en solution sursaturée, solution qui s'était faite à froid, ce qui est intéressant à signaler. La cristallisation ayant lieu pendant l'été, on ne peut l'expliquer par une diminution de la température des solutions.

En examinant ce Tableau, on voit que la totalité des sucres réducteurs, du saccharose et de l'amygdalosite se trouve en dissolution dans les 2.500 premiers cm³, c'est-à-dire, quand on a utilisé, en alcool, 5 fois le poids du tourteau.

Mais ces principes ne se dissolvent pas avec la même

vitesse : dans les quatre premières fractions (1000 cm³) il existe 7 g.,386 de sucre réducteur, soit 77,44 p. 100 ; 13 g.,805 de saccharose, soit 90,06 p. 100 et 20 g.,906 d'amygdalosite, soit 57,40 p. 100. C'est donc le saccharose qui se dissout le plus vite et l'amygdalosite le moins vite : la totalité du saccharose se trouve en dissolution dans les 7 premières fractions, autrement dit, en 8 h. 45 min. ; il faut arriver à la dixième fraction, c'est-à-dire qu'il faut une percolation de 12 h. 25 minutes pour avoir la totalité de l'amygdalosite.

Le Tableau suivant montre nettement la rapidité avec laquelle s'opère la dissolution de ces deux principes. On a indiqué, en regard de la durée de la percolation la quantité p. 100 du saccharose et de l'amygdalosite dissous.

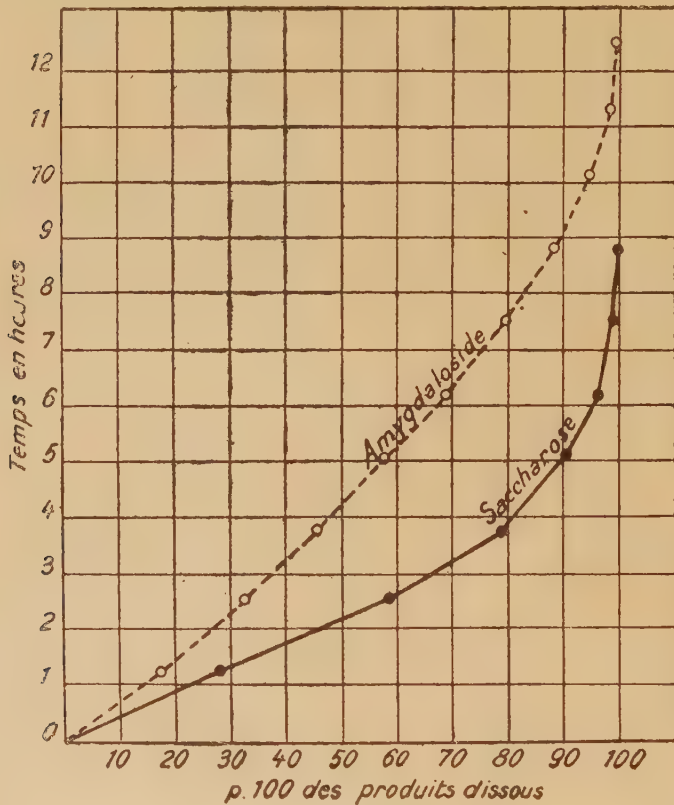
TABLEAU V.

Durée de la percolation		Saccharose dissous p.100	Amygdalosite dissous p.100
h. min.			
1	45	27,75	16,01
2	30	57,96	32,09
3	45	78,50	45,13
5	5	90,06	57,40
6	18	95,82	68,29
7	30	98,70	79,62
8	45	99,96	88,13
10	5	»	94,80
11	18	»	98,77
12	25	»	99,89

Les courbes ci-contre ont été faites en prenant, comme ordonnées la durée de la percolation et comme abscisses les pourcentages du saccharose et de l'amygdalosite passés en solution.

La dissolution du sucre réducteur, du saccharose, de l'amygdalosite, au cours de la percolation du tourteau d'amande amère, est donc très rapide. C'est cette rapidité

de dissolution qui explique pourquoi le saccharose n'a pas le temps d'être hydrolysé par la sucrase : en 5 heures, 90 p. 100 du saccharose sont soustraits à l'action de la sucrase, insoluble dans l'alcool à 70°.



COURBE 1. — Rapidité de la dissolution du saccharose et de l'amygdalose au cours de la percolation du tourteau d'amande amère par l'alcool à 70°.

Mais les diverses colatures obtenues ne contiennent pas que des sucres réducteurs, du saccharose et de l'amygdalose. On a déterminé le résidu sec, à + 110°, et, en

retranchant le poids des glucides ci-dessus du poids du résidu sec, on a obtenu un chiffre qui représente ce qu'on peut appeler la « substance extractive ».

TABLEAU VI.

Fractions	Résidu sec total	Sucres réducteurs Saccharose Amygdaloside	Substance extractive	Substance extractive p. 100 du résidu sec
1	33,045	13,142	19,903	60,22
2	25,740	12,395	13,443	52,22
3	20,805	9,310	11,495	55,25
4	16,865	7,248	9,617	51,09
5	13,785	5,638	8,147	59,10
6	9,280	5,171	4,109	44,27
7	8,315	3,623	4,688	56,37
8	5,415	2,632	2,783	51,09
9	3,300	1,526	1,774	50,72
10	2,010	0,465	1,545	76,86

On voit, que dans toutes les fractions, sauf au n° 6, cette « substance extractive » représente plus de 50 p. 100 du résidu sec et que, dans la fraction n° 10, elle forme 76,86 p. 100 de ce résidu. En conséquence, si, à partir de cette fraction, on continue la percolation du tourteau, on chargera la colature en principes extractifs indéterminés sans l'enrichir en principes définis, sucres et glucosides.

*
* *

Ces expériences ont donc nettement établi que dans la percolation rapide du tourteau d'amande amère par l'alcool à 70°, la dissolution des sucres et du glucoside a lieu dès le début de l'opération ; le saccharose passe entièrement en solution dans les 9 premières heures et il faut 12 heures et demie, pour obtenir la totalité de l'amygdaloside.

En tenant compte de ces faits, il semblait que l'on pourrait, au moyen de la percolation, extraire du tourteau

d'amande amère, l'amygdaloside par l'alcool et extraire du résidu épuisé par l'alcool, le produit fermentaire des amandes ou émulsine.

En effet, une percolation de quelques heures, par l'alcool à 70°, suffit pour dissoudre l'amygdaloside et ne peut pas altérer les propriétés des ferments qui restent fixés sur le résidu ; par macération de ce résidu dans l'eau, on doit obtenir ces ferments.

Cette façon de préparer l'émulsine des amandes amères aurait le grand avantage d'utiliser une matière première (le tourteau d'amande amère) 6 à 7 fois moins chère que les amandes que l'on utilise jusqu'ici.

On a réussi à préparer, avec le même tourteau, l'amygdaloside et l'émulsine.

Préparation de l'amygdaloside. — On a lixivié, en 24 heures, 500 g. de tourteau d'amande amère par 2 500 cm³ d'alcool à 70°. On a ainsi obtenu une colature renfermant les sucres et l'amygdaloside et un résidu que l'on a séché à l'étuve. Ce résidu sec pesait 326 g. On l'a mis de côté pour la préparation de l'émulsine.

Le liquide alcoolique a été distillé au bain-marie. Le résidu aqueux a été filtré pour éliminer l'huile et le liquide limpide a été évaporé à sec, sous pression réduite. Le résidu a été repris à l'ébullition par l'alcool à 90° : l'amygdaloside a cristallisé par refroidissement. On en a obtenu 15 g. soit un rendement de 3 p. 100.

Après purification par une nouvelle cristallisation dans l'alcool à 90°, il présentait les propriétés suivantes qui sont celles de l'amygdaloside pur.

Il cristallise avec 10,93 p. 100 d'eau. Anhydre, il fond à + 225°-226°. Son pouvoir rotatoire, déterminé en solution aqueuse à 4 p. 100 est de $\alpha_D = -36,25$ soit $\alpha_D = -40,2$ pour le produit anhydre.

En mélangeant des volumes égaux de solutions d'amyg-

daloside à 4 p. 100 et d'émulsine à 2 p. 100, il se dégage immédiatement une odeur d'acide cyanhydrique. En une heure, la rotation ($l = 2$) du mélange a passé de $- 1^{\circ} 32'$ à $+ 52'$ et en 24 heures à $+ 1^{\circ} 14'$ (action terminée). Le liquide contenait 1 g.,337 de glucose pour 100 cm³ soit un indice de 483, l'indice théorique de l'amygdaloside étant de 490.

Extraction de l'émulsine. — Le résidu de la lixiviation par l'alcool à 70° a été mis à macérer, pendant 48 heures, dans quatre fois son poids d'eau distillée toluénée. Au bout de ce temps, on a exprimé et filtré et sur le liquide obtenu on a continué les opérations indiquées pour la préparation de l'émulsine des amandes : précipitation de la caséine par l'acide acétique, filtration et précipitation de l'émulsine par l'alcool.

Finalement l'émulsine séchée dans le vide sulfurique pesait 7 g., soit un rendement de 14 g. par kilogramme de tourteau. Le tourteau représente environ le double de son poids d'amande et les amandes donnent 14 gr. d'émulsine par kilogramme, le rendement en émulsine du tourteau est la moitié de celui des amandes.

L'émulsine du tourteau se présente sous la forme d'une poudre rougeâtre, plus dense que l'émulsine des amandes.

On a comparé son activité à celle d'une émulsine d'amande préparée au laboratoire suivant le procédé habituel. On a envisagé trois ferments que contient toujours l'émulsine des amandes : glucosidase β , lactase et sucrase.

Voici le détail des expériences :

I. — Macérations. — On a fait macérer chaque émulsine dans l'eau toluénée dans les proportions de 2 g. et de 0 g., 20 pour 100 cm³. On a filtré après 24 heures de macération. Les macérés de l'émulsine de tourteau sont bien plus foncés

que ceux provenant de l'émulsine des amandes. Les déviations sont les suivantes ($l = 2$).

	Macéré à 2 p. 100	Macéré à 0,2 p. 100
Emulsine du tourteau.....	— 1°16'	— 8'
Emulsine ordinaire.....	— 10'	± 0

L'émulsine du tourteau est près de 8 fois plus active sur la lumière polarisée que l'émulsine des amandes. Mais, les propriétés optiques de l'émulsine ne sont que très rarement les mêmes d'un échantillon à l'autre et on en a trouvé qui étaient aussi lévogyres que l'émulsine du tourteau et, récemment, il en a été préparé plusieurs échantillons déviant à droite la lumière polarisée.

II. — Glucosidase β . — On a étudié l'activité synthétisante et l'activité hydrolysante de ce ferment qui est le plus important de l'émulsine.

1° SYNTHÈSE — A. — *Action sur le glucose en solution aqueuse concentrée.* — On a fait agir, à + 32°, 1 g. de chaque émulsine sur une solution aqueuse de glucose à 58 g., 743 pour 100 cm³. On sait que dans ces conditions, il y a formation de diglucoses (glucosides β du glucose) parmi lesquels on a déjà isolé le gentiobiose et le cellobiose.

On a suivi la marche de la synthèse au polarimètre.

Durée de la synthèse	Emulsine ordinaire	Emulsine du tourteau
Au départ ($l = 2$).....	+ 59° 6'	+ 59° 6'
7 jours ..	+ 51°34'	+ 52°22'
16 —	+ 51°18'	+ 51°34'
26 —	+ 50°56'	+ 51°18'
36 —	+ 50°56'	+ 51°10'
45 —	+ 50°56'	+ 51°10'

La synthèse est plus rapide au début avec l'émulsine ordinaire qu'avec l'émulsine du tourteau, puisque la

première a provoqué, en 7 jours, un changement de déviation de $7^{\circ}32'$ et la seconde de $6^{\circ}44'$: l'activité de l'émulsine ordinaire, est donc la plus grande dans cette expérience.

B. — *Action sur le glucose en solution dans l'alcool méthylique.* — On a fait agir, à la température ordinaire 0 g.,50 de chaque émulsine sur 100 cm³ d'une solution de glucose à 1 g.,130 pour 100 cm³ dans l'alcool méthylique à 50 p. 100 en poids.

On a suivi la marche de la réaction au polarimètre.

Durée de la synthèse	Emulsine ordinaire	Emulsine du tourteau
Au départ ($l = 2$).....	+ $1^{\circ}12'$	+ $1^{\circ}12'$
6 jours	+ 38'	+ 42'
12 —	+ 12'	+ 12'
19 —	± 0	± 0
30 —	— 8'	— 10'

On peut dire que la synthèse est la même dans les deux cas : les deux émulsines possèdent donc ici, la même activité.

2° HYDROLYSE — A. *Salicoside.* — On a mélangé des volumes égaux de solution aqueuse de salicoside à 1 p. 100 et de macération aqueuse de chaque émulsine à 2 p. 100. L'hydrolyse a été très rapide : elle était presque complète avec les deux émulsines, en une heure et quart. Pour étudier plus facilement cette hydrolyse, on a opéré avec des macérations d'émulsine à 0,2 p. 100. Les changements de déviation observées sont consignés dans le Tableau suivant :

Durée de l'hydrolyse	Emulsine ordinaire	Emulsine du tourteau
20 minutes.....	14'	20'
40 —	24'	32'
1 heure.....	34'	44'
2 heures.....	50'	52'

L'émulsine du tourteau est nettement plus active que l'émulsine des amandes sur le salicoside

B. *Méthylglucoside* β . — On a mélangé des volumes égaux de solution à 1 p. 100 de méthylglucoside β et de solution à 2 p. 100 de chaque émulsine. On a observé les changements de déviation suivants :

Durée de l'hydrolyse	Emulsine ordinaire	Emulsine du tourteau
2 heures.....	16'	6'
4 —	22'	18'
6 —	36'	32'
10 —	44'	40'
15 —	50'	44'
24 —	50'	44'

L'émulsine des amandes agit plus rapidement que l'émulsine du tourteau sur le méthylglucoside β , mais dès la quatrième heure les différences sont faibles. En somme, les deux émulsines renferment une glucosidase β possédant sensiblement la même activité, celle de l'émulsine des amandes étant toutefois légèrement plus active, sauf sur le salicoside.

III. — **Lactase.** — On a étudié l'action hydrolysante sur le lactose en solution aqueuse et l'action synthétisante sur le galactose en solution dans l'alcool à 80°.

1° **Lactose.** — On a fait agir 0 g.,50 de chaque émulsine sur 100 cm³ d'une solution de lactose anhydre à 0 g.,945 p. 100 cm³ à + 32°. On a suivi la marche de la réaction en dosant le sucre réducteur par la méthode de BERTRAND. Les chiffres suivants indiquent le pourcentage de lactose hydrolysé.

Durée de l'hydrolysé	Emulsine ordinaire	Emulsine du tourteau
5 heures.....	11,07	18,98
10 —	39,55	45,88
32 —	82,27	90,18

L'émulsine du tourteau hydrolyse donc plus rapidement le lactose que l'émulsine ordinaire.

2° *Galactose*. — On fait agir 0 g.,50 de chaque émulsine sur 100 cm³ d'une solution dans l'alcool à 80° renfermant 1 g.,107 de galactose pour 100 cm³. On a opéré à + 32°. On a observé les rotations suivantes :

Durée de la synthèse	Emulsine ordinaire	Emulsine du tourteau
Au départ.....	+ 1°34'	+ 1°34'
5 jours.....	+ 1°14'	+ 1°14'
10 —	+ 1° 6'	+ 1° 6'
23 —	+ 50'	+ 1° 2'
36 —	+ 50'	+ 1° 2'

L'action des deux émulsines est la même dans les dix premiers jours.

IV. — *Sucrase*. — On a fait agir 0 g.,50 de chaque émulsine sur 100 cm³ d'une solution aqueuse de saccharose à 2 p. 100. On a observé les rotations suivantes :

Durée de l'hydrolyse	Emulsine ordinaire	Emulsine du tourteau
Au départ.....	+ 3°	+ 3°
5 jours.....	+ 2°14'	+ 2°28'
10 —	+ 2°	+ 2° 6'
15 —	+ 1°48'	+ 1°50'
27 —	+ 52'	+ 1°10'

Les deux émulsines renferment donc une petite quantité de sucrase.

On voit par ces expériences que l'émulsine obtenue avec le tourteau d'amande amère répond aux mêmes essais que celle des amandes douces, il ne peut pas y avoir d'inconvénient à remplacer, dans les recherches de laboratoire, l'émulsine des amandes par l'émulsine du tourteau.

En résumé, on a montré que les principes immédiats,

sucres et glucosides, se dissolvent très vite au cours de la percolation rapide du tourteau d'amande amère par l'alcool à 70°.

Le saccharose passe entièrement en solution dans les 9 premières heures de l'opération et il faut 12 h. et demie pour extraire la totalité de l'amygdaloside.

En utilisant ce procédé de percolation rapide, il est facile d'extraire du tourteau le saccharose et l'amygdaloside sans que les ferments exercent leur action hydrolysante et sans que ces mêmes ferments ne soient altérés par l'alcool.

On peut extraire alors du résidu épuisé par l'alcool une émulsine possédant sensiblement les mêmes propriétés que l'émulsine extraite des amandes douces.

Le tourteau fournit la même quantité d'émulsine que les amandes douces : 14 g. par kilogramme, mais il coûte 6 à 7 fois moins que ces dernières et il peut fournir, en outre, 30 g. d'amygdaloside par kilogramme.

2° Lixiviation sur 6 kg. de tourteau.

On a effectué ensuite une percolation sur 6 k.,390 du même tourteau d'amande amère et dans les mêmes conditions : macération préalable de 2 heures et lixiviation fractionnée par l'alcool à 70° de façon à recueillir environ 5 fois le poids du tourteau. Le Tableau suivant montre le fractionnement opéré.

TABLEAU VI.

Numéros des fractions	Volume des fractions (en cm ³)	Durée d'écoulement
1	5.000	4 h. 20'
2	5.525	3 h. 50'
3	10.350	10 h. 15'
4	5.600	5 h. 25'
5	3.740	1 h. 30'
6	3.505	1 h. 10'
7	3.970	tourteau pressé

Soit, en tout, 37.690 cm³ en 26 h. 30. Dans chacune de ces fractions, on a dosé le sucre réducteur, le saccharose et l'amygdalosite en opérant comme précédemment.

Voici les résultats réunis dans le Tableau suivant :

TABLEAU VII.

Fractions	Sucre réducteur			Saccharose	Amygdalosite
	initial	après invertine	après émulsine		
	g.	g.	g.	g.	g.
1	48	174	264	119	115
2	35	112	193	73	103
3	40	66	179	24	143
4	5	12	37	6	31
5	2	2	12		12
6	1	1	6		7
	131	367	690	222	411
Dans 6 kg., 390, il devrait y avoir..	112	339	709	215	469

Le Tableau VII ne mentionne que 6 fractions, parce que, dans la 7^e, un essai biochimique ne permettait plus de déceler ni saccharose, ni amygdalosite.

En examinant ce Tableau, on constate qu'il y a une augmentation du sucre réducteur initial sans perte de saccharose. Par contre, on a une diminution assez sensible en amygdalosite. Il y a donc eu une légère hydrolyse de ce principe immédiat avec production de glucose. Ceci explique l'augmentation du sucre réducteur initial, cette augmentation ne pouvant être attribuée au dédoublement du saccharose puisqu'on obtient 222 g. au lieu de 215. L'hydrolyse de l'amygdalosite provient probablement du temps de contact de ce glucoside avec l'alcool, temps de contact qui est forcément plus long étant données la forte quantité de tourteau et la hauteur de la colonne de poudre à traverser.

Par repos de plusieurs mois, l'amygdalosite a cristallisé dans la 2^e fraction. On en a retiré 8 g. On avait observé ce même phénomène dans la lixiviation fractionnée de 500 g.

Le Tableau VIII donne, en regard de la durée de percolation, les quantités p. 100 de saccharose et d'amygdalosite dissous.

TABLEAU VIII.

Durée de la percolation		Saccharose dissous p. 100	Amygdalosite dissous p. 100
h.	min.		
4	20	53,60	27,98
8	10	86,48	53,04
18	25	97,29	87,83
23	50	100,00	95,37
25	20		98,29
26	30		100,00

Il est visible en examinant les Tableaux VII et VIII que la totalité des principes immédiats passe dans les 6 premières fractions. Cependant le saccharose se dissout plus rapidement que l'amygdalosite puisqu'il passe dans les 4 premières fractions, c'est-à-dire dans les 26.475 premiers centimètres cubes. La totalité de l'amygdalosite est dissoute lorsqu'on a utilisé en alcool 33.720 cm³, c'est-à-dire environ 5 fois le poids du tourteau. Si on compare les quantités de sucre réducteur, de saccharose et d'amygdalosite dissous dans les 2 premières fractions (10.525 cm³ en 8 h. 10'), on constate qu'il est passé en solution 83 g. de sucre réducteur initial, soit 63,35 p. 100 ; 192 g. de saccharose, soit 86,48 p. 100 et 218 g. d'amygdalosite, soit 53,04 p. 100.

En 23 h., 50, la totalité du saccharose est dissoute et seulement 95,37 p. 100 de l'amygdalosite. Il faut 26 h., 30 pour avoir la totalité de l'amygdalosite.

Ces résultats ont été obtenus en faisant des essais bio-

chimiques sur une petite fraction de ces diverses colatures. Le reste a été employé à l'extraction de l'amygdalosite.

Le liquide alcoolique a été distillé par fractions. Il a fallu auparavant décanter une couche d'huile qui surnageait la 1^{re} portion. On a filtré au Buchner la 2^e pour retirer les 8 g. d'amygdalosite qui avait cristallisé.

Le liquide aqueux a été dégraissé à l'éther, neutralisé au carbonate de calcium, filtré sur filtre mouillé. On a distillé ensuite à sec sous pression réduite chaque fraction et on a extrait l'amygdalosite par traitement à l'alcool à 90°, puis par un mélange à parties égales d'alcool à 90° et d'éther acétique. L'amygdalosite a cristallisé par refroidissement. Le Tableau IX donne le poids d'extrait et d'amygdalosite obtenu cristallisé correspondant à chaque fraction.

TABLEAU IX.

Numéros des fractions	Extrait	Amygdalosite
1	319	46
2	304	53
3	306	49
4	83	36
5	28	9
6	31	4

197

On a donc extrait 197 g. d'amygdalosite. Le rendement en amygdalosite a été de 31 g. 46 au kilogramme. On l'a purifié par une nouvelle cristallisation dans l'alcool à 90°. Il a cristallisé avec 12,03 p. 100 d'eau et le pouvoir rotatoire de l'amygdalosite anhydre est $\alpha_D = -40^{\circ}, 18$.

Mais tous les tourteaux d'amande amère ne sont pas identiques. On a pu observer au laboratoire d'autres tourteaux livrés entièrement pulvérisés et dégageant déjà une légère odeur d'essence d'amande amère. Le rendement en

amygdalosite n'a été que de 15 g. au kilogramme et les quantités d'amygdalosite et de saccharose dans le rapport de 2 de saccharose pour 1 d'amygdalosite, c'est-à-dire un rapport inverse de celui qu'on a pu constater dans le tourteau étudié dans ce Mémoire.

De plus, ces tourteaux donnaient jusqu'à 37 g. d'émulsine au kilogramme et l'émulsine était beaucoup moins colorée.

CHAPITRE II.

Tourteau de coton ^[12].

On a fait sur le tourteau de coton les mêmes expériences que sur le tourteau d'amande amère. On a d'abord dosé le raffinose existant dans le tourteau de coton. Pour cela, on a employé la méthode à l'invertine sur un liquide obtenu en épuisant le tourteau par l'alcool à 60° bouillant. Après cela, on a dosé le raffinose dans un liquide obtenu en lixiviant à froid le tourteau par le même dissolvant.

Les opérations ont été conduites exactement comme pour le tourteau d'amande amère :

1° On a traité 50 g. de tourteau par 500 cm³ d'alcool à 60° bouillant. On a maintenu l'ébullition pendant une heure et on a laissé refroidir. On a décanté la solution alcoolique et on a versé sur le résidu 500 cm³ d'alcool à 60°. On a fait bouillir pendant une heure et on a effectué encore deux nouveaux épuisements par 500 cm³ d'alcool à 60°, en décantant à chaque fois. Finalement on a réuni les quatre liquides alcooliques et on les a distillés à sec, sous pression réduite. On a repris le résidu par de l'eau toluénée et c'est sur ce liquide aqueux qu'on a effectué les dosages.

2° On a humecté 250 g. de tourteau avec 125 cm³ d'alcool à 60°, on les a mis dans le percolateur et on a effectué

immédiatement la percolation au moyen d'alcool à 60° de façon à recueillir 2500 cm³ de colature en 24 heures.

On a distillé 500 cm³ de colature représentant 50 g. de tourteau et on a repris le résidu par de l'eau toluénée. On a dosé le raffinose sur ce liquide.

Comme pour le tourteau d'amande amère, on a donc employé 2000 cm³ d'alcool bouillant et 500 cm³ d'alcool froid, par percolation, pour épuiser 50 g. de tourteau.

Les résultats des dosages sont réunis dans le Tableau suivant qui permet une comparaison facile : 100 cm³ de liquide aqueux correspondent à 100 g. de tourteau.

On a calculé la quantité de raffinose d'après le sucre réducteur, exprimé en glucose, produit par l'invertine : un gramme de raffinose fournit, dans ces conditions, 0 g.,680 de sucre réducteur. Cette valeur a été déterminée expérimentalement et représente la moyenne d'un certain nombre d'expériences.

TABEAU I.

	Epuisement par	
	Alcool bouillant	Percolation à froid
Rotation ($l = 2$) :		
Initiale.....	+ 18°24'	+ 18°
Après action de l'invertine.....	+ 10°54'	+ 9°54'
Sucre réducteur p. 100 cm ³ :		
Initial.....	0	0
Après action de l'invertine.....	4 g.,737	4 g.,970
Par l'invertine :		
Changement de rotation.....	7°30'	8°6'
Sucre réducteur formé.....	4,737	4,970
Indice de réduction.....	632	613
Raffinose.....	6,966	7,308

Remarquons d'abord que le tourteau de coton, traité par l'alcool bouillant ou par l'alcool à froid, par percolation, ne contient pas de sucres réducteurs.

On voit ainsi, immédiatement, que les sucres hydrolysables par l'invertine n'ont pas subi d'hydrolyse pendant la percolation.

Sous l'action de l'invertine, il s'est formé dans le liquide provenant du traitement par l'alcool bouillant 4 g.,737 de sucre réducteur, exprimé en glucose, ce qui représente 6 g.,966 de raffinose, et, dans le liquide provenant de la percolation 4 g.,970 de sucre réducteur, soit 7 g.,308 de raffinose. On obtient donc un peu plus de raffinose par percolation que par traitement à chaud.

On a déjà constaté un fait analogue pour l'amygdalose du tourteau d'amande amère et on l'a expliqué de la façon suivante : le résidu de l'épuisement par l'alcool bouillant retient finalement une certaine quantité de dissolvant qui renferme encore une faible proportion de principes solubles.

Ce qu'on doit retenir ici, c'est qu'il est possible, en traitant le tourteau de coton, au moyen d'alcool à 60°, par le procédé de percolation rapide de M. BRIDEL et Mlle G. BAREL, d'extraire de ce tourteau plus de 7 p. 100 de raffinose.

Si on calcule la rotation produite par 7,308 de raffinose cristallisé dans 100 cm³, on trouve :

$$\alpha = \frac{105 \times 2 \times 7,308}{100} = + 15^{\circ}34.$$

On a observé une déviation de + 18°, soit une différence de — 2°,66. Si on calcule la teneur en raffinose de la solution d'après la déviation observée de + 18°, on trouve 8,57 p. 100.

Il existe dans le liquide déféqué des principes actifs sur la lumière polarisée, autres que le raffinose et sur lesquels l'invertine n'agit pas. On ne peut donc connaître la teneur exacte en raffinose d'un tel liquide qu'en dosant ce sucre par la méthode à l'invertine qu'on a employée. Cette

conclusion est contraire à l'opinion de HUDSON et HARDING (16) qui estiment qu'il n'y a dans les liquides qu'une seule substance active sur la lumière polarisée, le raffinose, et qui calculent la teneur en raffinose d'après la déviation. Ils ont trouvé ainsi que le tourteau qu'ils ont employé renfermait 8 p. 100 de raffinose anhydre, soit 9,42 p. 100 de raffinose hydraté. Ces chiffres sont certainement trop élevés.

On a étudié ensuite la vitesse de dissolution du raffinose dans l'alcool à 60°. Pour cela, on a effectué, sur 500 g. de tourteau de coton, une percolation fractionnée, comme il est indiqué ci dessous.

Au fur et à mesure de l'obtention des fractions, on les a examinées au polarimètre en déféquant complètement une prise d'essai par l'extrait de Saturne. Ces examens successifs ont permis d'arrêter rapidement la percolation puisque la 8^e fraction était inactive au polarimètre.

Les rotations inscrites dans le tableau suivant ont été ramenées, par le calcul, au volume de la prise d'essai.

TABLEAU II.

Numéros des fractions	Volumes des fractions (en cm ³)	Durée d'écoulement		Rotation (l = 2)
		h. min.		
1	250	1	45	+ 17°48'
2	250	1	30	+ 10°36'
3	250	1	45	+ 4°12'
4	250	1	45	+ 1°29'
5	250	1	45	+ 31'
6	270			+ 12'
7	250			+ 2'
8	250			+ 0

Soit en tout 2020 cm³ en 14 heures et demie.

On a donc recueilli seulement un volume qui représente quatre fois le poids du tourteau, alors que, pour le tourteau d'amande amère, on avait recueilli 10 fois le poids du

TABLEAU III.

Numéros des fractions.	1	2	3	4	5	6	7
Volumes des fractions (en cm ³).....	250	250	250	250	250	270	250
Rotation initiale.....	+ 18°43'	+ 10°56'	+ 4°41'	+ 1°54'	+ 40'	+ 16'	± 0
Rotation après action de l'invertine.....	+ 10°43'	+ 6° 2'	+ 2°50'	+ 4°12'	+ 24'	+ 8'	± 0
Changement de rotation.....	8°	3°54'	1°51'	42'	16'	8'	0
Sucre réducteur formé sous l'action de l'in- vertine.....	5,380	2,709	1,130	0,47	0,169	0,080	0
Indice de réduction...	672	694	610	638	633	600	0
Raffinose pour 100 cm ³	7,911	3,983	1,661	0,657	0,248	0,117	0
Raffinose par fraction.	19,777	9,957	4,152	1,642	0,620	0,316	0

tourteau. Ici, la 8^e fraction, inactive sur la lumière polarisée, ne renfermait certainement plus de raffinose ; il était inutile de prolonger la percolation.

Les déviations ci-dessus donnent déjà une idée assez nette de la manière dont s'effectue la dissolution du raffinose dans l'alcool à 60°, au cours de la percolation rapide.

Mais, comme on a vu que les déviations ne donnent pas la teneur exacte en raffinose, on a dosé ce sucre par l'invertine, dans chaque fraction. On a déterminé, en outre le résidu sec, à + 110°.

En additionnant tous les chiffres du raffinose, on trouve 36 g.,464.

Ainsi, en lixiviant 500 g. de tourteau, par 1500 cm³ d'alcool à 60°, en dix heures et demie ; on a dissous 36 g.,464 de raffinose, alors que ce même tourteau en a fourni, par une percolation de 24 heures, 36 g.,540 et, par l'alcool bouillant, 34 g.,830. On peut dire que l'épuisement est complet, en dix heures et demie.

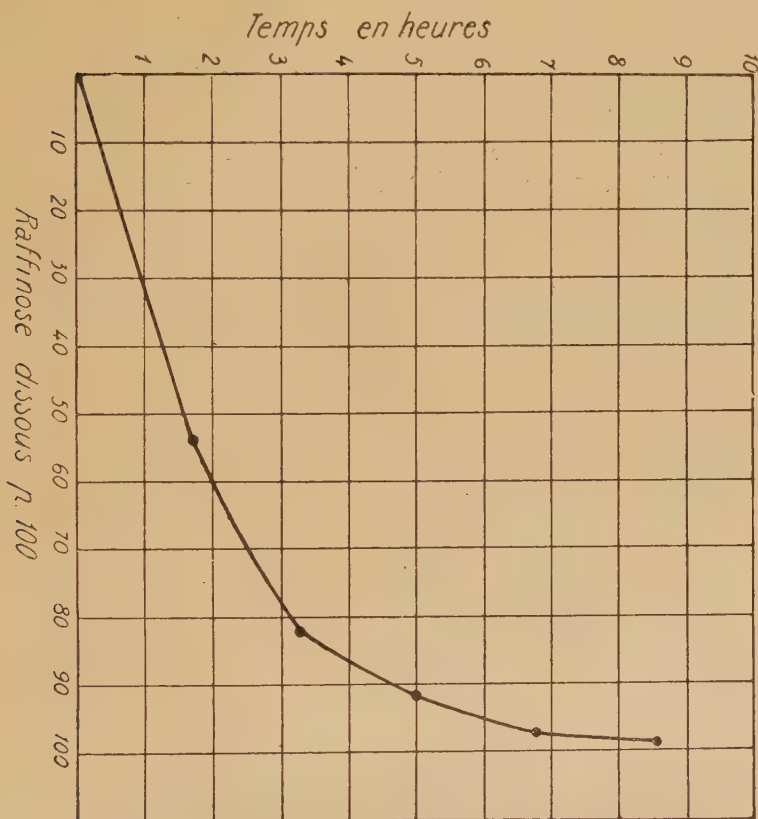
Le raffinose se dissout d'ailleurs avec une très grande rapidité, comme cela ressort nettement : 1° du tableau suivant dans lequel on trouve, en regard de la durée de la percolation, la proportion p. 100 du raffinose dissous et 2° de la courbe ci-dessous qui a été tracée en prenant, comme ordonnée, la durée de la percolation en heures, et comme abscisses, le pourcentage du raffinose passé en solution.

TABLEAU IV.

Durée de la percolation		Raffinose dissous
h.	min.	p. 100
1	45	54,23
3	15	81,54
5		92,93
6	45	97,43
8	30	99,13
10	30	100,00

Examinons le Tableau et la courbe.

En 1 heure 45 minutes, il s'est dissous 54,23 p. 100 du raffinose existant dans le tourteau et cette dissolution s'est faite dans 250 cm³ de liquide qui renferme, de la sorte,



COURBE 1. — Rapidité de la dissolution du raffinose au cours de la percolation du tourteau de coton par l'alcool à 60°.

près de 20 g. de raffinose. D'ailleurs, par un repos de plusieurs mois, le raffinose a cristallisé abondamment dans ce liquide. Le même fait a déjà été observé dans la percolation du tourteau d'amande amère : l'amygdaloside

a cristallisé. Ces exemples de sursaturation à froid par percolation sont intéressants à signaler.

En 5 heures, il s'est dissous 92,93 p. 100 du raffinose. Remarquons que, dans l'essai effectué avec le tourteau d'amande amère, on avait dissous, en 5 heures 5 minutes, 90,06 p. 100 du saccharose.

Toutefois, cette dissolution avait eu lieu dans 1000 cm³ de liquide alors qu'on a dissous 92,03 p. 100 du raffinose dans un volume de 750 cm³. La rapidité de la dissolution du raffinose dans l'alcool à 60° est donc considérable.

Afin de voir le rapport existant entre le raffinose et la « substance extractive », on a déterminé l'extrait sec, à + 110°. Du chiffre trouvé, on a soustrait le poids de raffinose anhydre, alors que les poids donnés dans le Tableau III représentent du raffinose cristallisé à 5 H₂O.

TABLEAU V.

Numéros des fractions	Résidu sec total	Raffinose anhydre	Substance extractive	Substance extractive p. 100 du résidu sec
1	28,915	16,781	12,134	41,96
2	16,335	8,449	7,886	48,27
3	7,895	3,523	4,372	55,37
4	4,085	1,394	2,691	65,87
5	2,250	0,527	1,723	76,57
6	1,520	0,269	1,251	82,30
7	1,015	0	1,015	100,00

Au début de la percolation, le raffinose forme plus de la moitié du résidu sec : 58,04 p. 100 dans la première fraction et 51,73 p. 100 dans la deuxième. La proportion de « substance extractive » augmente progressivement et passe de 55,37 p. 100 dans la troisième fraction à 82,30 p. 100 dans la sixième. A partir de cette fraction, tout le raffinose étant dissous, on augmente la proportion de « substance extractive » dissoute, autrement dit, on appau-

vit le résidu sec total en raffinose. Il ne faut donc pas pousser plus loin la percolation.

*
* *

Ces expériences ont ainsi nettement établi que le raffinose passe en solution au début de la percolation, puisqu'on en dissout plus de 80 p. 100 dans les 500 premiers cm³ d'une percolation effectuée sur 500 g. de tourteau. En outre, on a vu que, dans ces premières fractions, le raffinose représente plus de 50 p. 100 du résidu sec. On pouvait donc penser que, dans ces conditions, le procédé de percolation rapide de M. BRIDEL et Mlle G. BAREL devait permettre d'extraire facilement le raffinose du tourteau de coton et d'obtenir des liquides dont il serait possible d'extraire le raffinose à l'état cristallisé et pur.

On a déjà donné de nombreux procédés d'extraction du raffinose du tourteau de coton qui est la matière première convenant le mieux à la préparation de ce sucre, ainsi que l'ont indiqué, en 1914, C. S. HUDSON et T. S. HARDING [16].

Avant de donner le procédé proposé, passons en revue ceux qui ont été trouvés dans la littérature. Le plus ancien est celui de H. RITTHAUSEN [18] qui date de 1884, puis viennent ceux de ZITKOWSKI [20], en 1910, de HUDSON et HARDING [16], en 1914, de CLARKS [13], en 1922, de HARDING [15], en 1923, et de ENGLER, DECKER et ADAMS [14], en 1925.

H. RITTHAUSEN mélangeait le tourteau avec de l'alcool à 80°, puis soutirait le liquide. L'alcool était distillé et l'extract traité à l'éther pour éliminer l'huile, puis dissous dans l'eau. La solution aqueuse était alors déféquée à l'extract de Saturne; le précipité était essoré et le liquide limpide, débarrassé de plomb par l'hydrogène sulfuré était après filtration, évaporé en un sirop qui cristallisait en une ou deux semaines par repos à 0°.

Cette méthode est simple et si elle ne donne qu'un ren-

dement de 1 à 2,5 p. 100, cela ne peut tenir qu'à un mauvais épuisement de tourteau, dû à l'emploi d'un alcool de titre trop élevé, dans lequel le raffinose est peu soluble.

La méthode proposée et qui fournit 3,3 p. 100 est celle de RITTHAUSEN dans laquelle on a changé le mode d'extraction et le titre l'alcool, et supprimé l'emploi de l'éther. HUDSON et HARDING l'ont rejetée, en 1914, parce qu'elle nécessite l'emploi d'alcool et d'éther.

ZITKOWSKI épuise le tourteau par l'eau. Il alcalinise le liquide d'expression par la chaux et il filtre. Il précipite ensuite, à basse température, le raffinose à l'état de combinaison calcique qu'il recueille et qu'il décompose par le gaz carbonique. La solution de raffinose est alors évaporée en sirop qui cristallise. HUDSON et HARDING ont essayé ce procédé, mais l'ont abandonné parce qu'il ne fournit que péniblement 1 p. 100 de raffinose.

Ils ont alors proposé la méthode suivante qui est longue et pénible, mais avec laquelle ils ont, néanmoins préparé 5 kg. de raffinose : on mélange 1 kg. de tourteau avec 5 litres d'eau et on essore aussi vite que possible pour éviter que le mélange ne devienne visqueux, après 15 minutes de contact, et ne puisse plus s'essorer. D'après les auteurs, le raffinose, en dépit de ce faible temps de contact, passerait en solution dans l'eau.

Le filtrat est complètement délégué à l'extrait de saturne : 200 cm³ pour un kg. de tourteau. On jette le liquide sur un filtre ordinaire et le précipité s'égoutte lentement en une nuit. Le lendemain matin, on l'essore sur un entonnoir de BÜCHNER et on le lave. On débarrasse les filtrats réunis de l'excès de plomb par l'hydrogène sulfuré et on filtre de nouveau.

D'après la déviation du filtrat, les auteurs calculent qu'il existe en solution 80 gr. de raffinose anhydre. On a vu, précédemment que cette quantité est certainement trop forte, car, dans le liquide, un ou plusieurs principes agis-

sant sur la lumière polarisée accompagnent le raffinose.

La solution incolore est évaporée en sirop, sous pression réduite, en présence de 0 g., 20 d'hydrosulfite de sodium. On dissout dans ce sirop 2 g. d'hydrate de baryte par gramme de raffinose et on verse la solution dans une fois et demie son volume d'alcool méthylique anhydre ou d'alcool à 95°. Ce dernier fournirait un raffinosate plus pur. Le raffinosate est décomposé par l'acide phosphorique et on précipite par l'acide sulfurique les dernières traces de baryum. On filtre sur noir et on concentre en sirop dans lequel on ajoute un peu d'alcool renfermant 0,3 p. 100 d'acide nitrique. Le raffinose cristallise, mais comme il contient de 0,5 à 1 p. 100 de cendres, malgré l'addition d'acide nitrique, il faut le faire recristalliser en ajoutant à une solution aqueuse à 50 p. 100 de l'alcool nitrique jusqu'à trouble. Finalement on obtient, en raffinose pur, 2,5 p. 100 du tourteau.

CLARKS a utilisé ce procédé de préparation, mais il a remplacé la macération rapide de HUDSON et HARDING par une percolation par l'eau. ENGLIS, DECKER et ADAMS, qui citent ce travail, estiment que la percolation par l'eau du tourteau en poudre fine, tel qu'on le trouve dans le commerce, est impossible, parce que le tourteau devient rapidement visqueux et que l'eau ne passe plus. Elle serait possible, sans doute, avec un tourteau en poudre grossière.

HARDING, abandonnant le procédé qu'il avait donné avec HUDSON, proposa la méthode suivante qui évite l'emploi de la baryte.

On traite 6 kg. de tourteau de coton par 30 litres d'eau contenant 750 gr. de sulfate d'aluminium; on filtre et on évapore à 3 litres. On ajoute alors 6 litres d'alcool à 80° pour précipiter le sulfate d'aluminium; après dépôt et décantation, on défèque le liquide clair à l'extrait de saturne; on filtre; on élimine l'excès de plomb par l'hydrogène sulfuré; on décolore au noir animal et on filtre de

nouveau. On distille pour éliminer l'alcool, puis on concentre à 300 cm³. On ajoute alors de l'alcool à 95° : le raffinose cristallise. Le rendement est de 2 p. 100 environ du poids du tourteau.

En 1925, ENGLIS, DECKER et ADAMS ont donné ce procédé basé sur l'emploi de l'alcool méthylique comme dissolvant et qui n'est qu'une modification du procédé de RITTHAUSEN, faite dans le but de faciliter la dissolution du raffinose.

Ce sucre est, en effet, beaucoup plus soluble dans l'alcool méthylique que dans l'alcool éthylique à 80°. Leur procédé est le suivant :

On épuise, à chaud, dans un appareil continu, 2 gr. de tourteau par 4 litres d'alcool méthylique. L'extraction doit durer de 2 à 3 jours.

Ensuite, on concentre, par distillation, à 600 cm³. On dilue à 3 litres avec de l'eau pour séparer l'huile que l'on enlève alors en la dissolvant dans l'éther de pétrole.

On défèque ensuite à l'extrait de Saturne, en employant 100 cm³ pour les 2 k. de tourteau. La défécation n'est pas complète, mais les auteurs la regardent comme suffisante ; car, d'après eux, une plus grande proportion d'extrait de Saturne diminue le rendement par suite de la précipitation d'une certaine quantité de raffinose,

Après essorage du précipité plombique, élimination de l'excès de plomb par l'hydrogène sulfuré, la solution est concentrée en sirop renfermant 70 à 80 p. 100 de résidu sec. On fait cristalliser le raffinose par le procédé de HUDSON et HARDING.

Le rendement varie de 2 à 4 p. 100, avec une moyenne de 2,5 p. 100 en raffinose recristallisé.

*
* *

Il ressort de cet examen que le meilleur procédé, à cause de sa simplicité, est certainement celui de RITTHAUSEN.

Son rendement est malheureusement trop faible puisqu'on atteint difficilement 2 p. 100.

Ce faible rendement est dû à un mauvais épuisement du tourteau, par l'alcool à 80°, dans lequel le raffinose est peu soluble.

ENGLIS, DECKER et ADAMS ont remplacé l'alcool à 80° par l'alcool méthylique anhydre et ils ont opéré à chaud au lieu d'opérer à froid. Ils ont élevé le rendement à 2,5 p. 100 en moyenne. Mais leur procédé d'extraction exige 2 à 3 jours pour 2 kg. de tourteau : il est donc beaucoup trop long.

Dans le procédé proposé, on a cherché une méthode d'extraction simple et un dissolvant dans lequel le raffinose soit facilement soluble. On a tenu compte également des résultats obtenus dans la première partie de ce mémoire.

Préparation du raffinose. — On humecte 10 kg. de tourteau avec 5 litres d'alcool à 60°. On met immédiatement la poudre humide dans un percolateur et on lixivie avec 10 litres d'alcool à 60°. On recueille la colature par fraction de 5 litres. Pour obtenir la dernière fraction, on verse sur la poudre 6 litres d'eau distillée que déplace l'alcool. On peut faire toute l'opération dans la journée, mais on peut également régler l'écoulement du liquide de façon à recueillir les 15 litres en 24 heures.

On a alors trois fractions de 5 litres dont la teneur en raffinose va en diminuant fortement de la première à la dernière.

On distille la première fraction, à l'alambic, pour récupérer l'alcool. On obtient un résidu aqueux de 2 litres environ qu'il est nécessaire de diluer de son volume d'eau distillée avant de le déféquer complètement par addition de 500 cm³ d'extrait de saturne. On essore le précipité plombique qui retient l'huile ; on élimine l'excès de plomb par l'hydrogène sulfuré et on essore le sulfure de plomb.

On obtient ainsi un liquide absolument incolore que l'on évapore à sec, sous pression réduite, sans dépasser $+ 50^{\circ}$, de façon à éviter l'action hydrolysante de l'acide acétique, sur le raffinose, à la fin de l'opération. L'extrait est repris, à l'ébullition, par l'alcool à 85° et le raffinose cristallise.

On répète exactement les mêmes opérations sur la 2^e et la 3^e fraction, sauf qu'il est inutile de diluer le liquide aqueux avant de le déséquer par 400 cm³ d'extrait de Saturne pour la 2^e fraction et 350 cm³ pour la 3^e. On a employé, en tout, 1250 cm³ d'extrait de Saturne pour 10 kg. de tourteau, alors que HUDSON et HARDING, dans leur procédé, doivent en employer 2.000 cm³.

Après avoir recueilli le raffinose, on concentre les liquides alcooliques en un sirop qui ne tarde pas à cristalliser. On essore les cristaux et on les purifie par cristallisation dans l'alcool à 85° .

On retire, finalement, 330 g. de raffinose pur pour 10 kg. de tourteau. C'est le meilleur rendement que l'on ait obtenu avec n'importe quel procédé.

Le raffinose, ainsi préparé, présentait les propriétés suivantes :

Il cristallise, avec 15,05 p. 100 d'eau (Théorie : 15,15 p. 100). Son pouvoir rotatoire déterminé en solution aqueuse à 1,8846 p. 100 cm³ est de $\alpha_D = + 105^{\circ},23$. Il n'est pas réducteur.

Sous l'action de l'invertine, la rotation de cette solution a passé de $+ 3^{\circ}58'$ à $+ 1^{\circ}58'$, soit un changement de 2° et il s'est formé 1 g.,2940 de sucre réducteur, exprimé en glucose pour 100 cm³.

L'indice de réduction est de 642 et un gramme de ce raffinose a donné, sous l'action de l'invertine 0 g.,686 de sucre réducteur, exprimé en glucose.

C'est donc bien du raffinose pur,

CONCLUSIONS. — Il ressort de ces expériences qu'en appliquant au tourteau de coton le procédé de percolation rapide de M. BRIDEL et Mlle G. BAREL, on dissout très vite, dans l'alcool à 60°, le raffinose que contient ce tourteau :

En opérant sur 500 g. de tourteau renfermant 36 g.,464 de raffinose, 54,23 p. 100 du raffinose passent en solution en une heure trois quarts, dans 250 cm³ de liquide. En 5 heures, il s'en dissout 92,93 p. 100 et la dissolution est totale en 10 heures.

Dans les 2 premières fractions, le raffinose représente plus de 50 p. 100 du résidu sec, puis la « substance extractive » augmente progressivement et passe de 55,37 p. 100 dans la 3^e fraction à 82,30 p. 100 dans la 6^e.

En tenant compte de ces faits, on a donné un procédé de préparation du raffinose qui permet d'en obtenir 3,3 p. 100 du poids du tourteau. Ce procédé est très simple et n'exige, en dehors des appareils ordinaires, qu'un percolateur et qu'un alambic.

CHAPITRE III.

Poudre de gentiane séchée sans fermentation.

En octobre 1927, je me suis procuré à Gérardmer (1) 30 kg. de gentiane fraîche qu'on a fait sécher à l'étuve à $+35^{\circ}$ en en réservant une fraction de 500 g. pour étudier la composition de la racine fraîche. Après dessiccation, les racines ont été pulvérisées et la poudre conservée en flacons bouchés à l'émeri dans un endroit sec. Toutes les expériences relatées dans ce chapitre ont été faites sur cette poudre dont on avait à sa disposition plus de 7 kg.

On donnera d'abord la composition de la racine fraîche traitée par l'alcool bouillant dès son arrivée au laboratoire, puis la composition de la même racine après dessiccation à l'air. On a opéré pour la poudre de gentiane avec trois alcools de titre différent : 70° , 90° et 95° et on a procédé pour chaque alcool à un épuisement à l'alcool bouillant et à une percolation à froid. On a fait ensuite une lixiviation fractionnée permettant d'étudier la rapidité de dissolution des sucres et du gentiopicroside.

(1) Grâce à l'obligeance de mon excellent confrère M. Ch. DEFOUR, pharmacien à Gérardmer, à qui je suis heureuse d'adresser mes plus vifs remerciements.

1^o Composition de la racine fraîche de gentiane.

On a analysé les racines fraîches dès leur arrivée au laboratoire. Pour cela, on a suivi le procédé indiqué par M. BRIDEL, dans sa thèse, datant de 1911 [6, p. 39 et suivantes]. Voici un résumé de ce procédé :

Les racines, coupées en tranches, sont projetées dans l'alcool à 90° bouillant. Après 20 minutes d'ébullition, on laisse refroidir ; après quoi, on passe les racines au hachoir et on les épuise par une nouvelle quantité d'alcool à 90°.

Les deux liquides sont réunis et distillés à sec sous pression réduite. L'extrait est épuisé, à trois reprises, par l'éther acétique hydraté à l'ébullition qui dissout le gentiopicroside, alors que les sucres restent insolubles. On a ainsi, d'une part, une solution glucosidique et d'autre part, un extrait sucré.

L'extrait sucré, séché dans le vide pour éliminer toute trace d'éther acétique dissous dans l'eau donne une solution aqueuse qui permet le dosage du gentianose et du saccharose au moyen de l'invertine et de l'émulsine : On fait agir d'abord l'invertine qui hydrolyse, à la fois, le saccharose en glucose et fructose et le gentianose en fructose et gentiobiose. L'émulsine hydrolyse ensuite le gentiobiose en glucose. On sait que, dans cette dernière hydrolyse, il y a formation de 1 g.,489 de sucre réducteur pour 3 g.,42 de gentiobiose, qui se sont formés aux dépens de 5 g.,04 de gentianose, au cours de l'hydrolyse préalable par l'invertine.

La quantité de sucre réducteur formé par l'émulsine, servira donc à calculer la quantité de gentianose. Pour cela, il suffira de multiplier cette quantité par le facteur 3,384 pour avoir le gentianose existant originairement dans la racine essayée.

Après avoir calculé de la sorte le gentianose, on calculera le saccharose par différence. En effet, on sait que

5 g.,04 de gentianose produisent, sous l'action de l'invertine 3 g.,914 de sucre réducteur, exprimé en glucose. En multipliant le chiffre représentant le gentianose par le facteur 0,776, on aura la quantité de sucre réducteur que produit cette quantité de gentianose par l'invertine. On retranchera le chiffre trouvé du chiffre représentant, dans l'essai, le sucre réducteur produit par l'invertine et l'on obtiendra ainsi le sucre réducteur provenant de l'hydrolyse du saccharose. En multipliant ce nouveau chiffre par 0,95 on aura le saccharose existant dans la racine (3 g.,60 de sucre réducteur représentant 3 g.,42 de saccharose).

La solution glucosidique dans l'éther acétique permet le dosage du gentiopicroside par une méthode analogue. On l'évapore à sec et on reprend l'extrait par l'eau. On fait alors agir l'émulsine sur cette solution. Un molécule de gentiopicroside, 356, fournit par l'émulsine, une molécule de glucose, 180. En multipliant la quantité de sucre réducteur produit par l'émulsine par le facteur 1,977, on obtiendra la quantité de gentiopicroside existant dans la racine.

En outre, le calcul de l'indice de réduction indiquera si on a affaire à du gentiopicroside pur dont l'indice est de 111.

Dans l'essai de la racine fraîche, on a obtenu les résultats suivants avec des liquides dont 100 cm³ représentaient 100 g. de racines fraîches,

TABLEAU I.

Dosage du saccharose et du gentianose.

Rotation ($l = 2$) :

Initiale.....	+ 7°16'
Après action de l'invertine.....	— 5°12'
— l'émulsine.....	— 43'

Sucre réducteur (p. 100 cm³) :

Initial.....	0 g.,512
Après action de l'invertine.....	9,790
— l'émulsine.....	12,057

Par l'invertine :

Changement de rotation.....	12°28'
Sucre réducteur formé.....	9,278
Indice.....	744

Par l'émulsine :

Changement de rotation.....	4°29'
Sucre réducteur formé.....	2,267
Indice.....	506
Gentianosé.....	7,671
Saccharose.....	3,159

Sous l'action de l'invertine, on a observé un changement de rotation de 12°28' et la formation de 9 g.,278 de sucre réducteur. Ce sont les plus forts changements que l'on ait observés avec la racine de gentiane. M. BRIDEL [6, p. 45] a obtenu comme maxima respectivement 10°53' et 7 g.,826.

La quantité de gentianose 7 g.,671 est également supérieure à celle observée auparavant, 5 g.,231, le 17 septembre. Quant à la quantité de saccharose, 3 g.,159, elle se trouve dans la moyenne des quantités trouvées précédemment. Si on additionne le gentianose et le saccharose, on observe une différence importante entre cette racine et celles qui ont été analysées auparavant par M. BRIDEL. Dans ces racines, le gentianose représentait en septembre 64,58, en octobre 44,89 et en novembre 49,52 p. 100 des sucres hydrolisables par l'invertine. Dans la racine essayée, le gentianose représentait 70,83 p. 100 de ces sucres. Cette racine possède donc la caractéristique de renfermer une très forte proportion de gentianose.

TABLEAU II.

Dosage du gentiopicroside.

Rotation ($l = 2$) :

Initiale.....	— 7°22'
Après action de l'émulsine.....	+ 54'

Sucre réducteur (pour 100 cm³) :

Initial.....	0,150
Après action de l'émulsine.....	1,142
Changement de rotation.....	8°16'
Sucre réducteur formé.....	0,992
Indice de réduction.....	119
Gentiopicroside.....	1,961

Pour un changement de rotation de 8°16', il s'est fait 0 g.,996 de glucose, ce qui correspond à 1 g.,961 de gentiopicroside pour 100 g.. La teneur moyenne en gentiopicroside est de 2 g. pour 100 g.

2° Composition de la racine séchée à l'air sans fermentation.

Les racines, dès leur arrivée au laboratoire, en octobre 1927, ont été mises à sécher. 26 kg.,540 ont fourni 7 kg.,300 de racines sèches, soit une teneur en matière sèche de 27,88 p. 100.

Après dessiccation, elles ont été pulvérisées au moulin et analysées de la même façon que les racines fraîches.

On a opéré, pour la poudre de gentiane, exactement comme on l'avait déjà fait pour le tourteau d'amande amère [11] et pour le tourteau de coton [12].

On a traité 50 g. de poudre par 500 cm³ d'alcool bouillant. On a maintenu l'ébullition pendant une heure et on a laissé refroidir. On a décanté la solution alcoolique et on a versé sur le résidu 500 cm³ d'alcool. On a fait bouillir pendant une heure et on a effectué encore deux nouveaux épuisements par 500 cm³ d'alcool, en décantant à chaque fois. Finalement, on a réuni les quatre liquides alcooliques et on les a distillés à sec sous pression réduite. On a dosé, sur cet extrait, sucres réducteurs, saccharose, gentianose et gentiopicroside, en opérant comme dans l'essai de la racine fraîche.

Pour la percolation, on a humecté 250 g. de poudre avec 125 cm³ d'alcool et on a procédé immédiatement à la percolation, sans macération de 2 heures, de façon à recueillir 2.500 cm³ de colature en 24 heures.

On a distillé 500 cm³ de cette colature, représentant 50 g. de poudre et on a effectué les dosages sur l'extrait ainsi obtenu.

On peut faire remarquer que, pour 50 g. de tourteau, on a employé 2.000 cm³ d'alcool bouillant et seulement 500 cm³ d'alcool par percolation. Les résultats obtenus avec les trois alcools seront examinés successivement dans l'ordre suivant : alcool à 70°, alcool à 90° et alcool à 95°.

Pour chacun des alcools, les résultats des dosages par épuisement à l'alcool bouillant et par percolation totale à froid seront réunis dans un tableau qui permet une comparaison facile ; 100 cm³ de liquide aqueux correspondent à 100 g. de poudre.

On donnera ensuite les résultats de la lixiviation fractionnée.

α) ALCOOL A 70°.

TABLEAU III.

Dosage du saccharose et du gentianose.

	Epuisement par	
	l'alcool bouillant	Percolation à froid
Rotation ($l = 2$) :		
Initiale.....	+ 14°24'	+ 16°12'
Après action de l'invertine.....	— 15°36'	— 16°12'
— l'émulsine.....	0°	0°
Sucre réducteur (pour 100 cm ³) :		
Initial.....	5,796	6,438
Après action de l'invertine.....	27,996	29,970
— l'émulsine.....	35,181	37,674

Par l'invertine :

Changement de rotation.	30°	32°24'
Sucre réducteur formé.	22,200	23,532
Indice.	740	726

Par l'émulsine :

Changement de rotation.	15°36'	16°12'
Sucre réducteur formé.	7,185	7,704
Indice.	460	475
Gentianose.	24,314	26,070
Saccharose.	3,166	3,136

En examinant, dans ce Tableau, les chiffres du sucre réducteur formés par l'invertine et par l'émulsine, on constate qu'on en obtient plus par percolation que par l'alcool bouillant. 23 g.,532 et 22g.,200 soit une différence de 1 g.,332 pour l'invertine et 7 g.,704 et 7g.,185 soit une différence de 0 g.,519 pour l'émulsine.

De même, on obtient plus de gentianose par percolation que par épuisement à l'alcool bouillant.

La quantité de saccharose est très sensiblement la même.

Dans l'épuisement à l'alcool bouillant sous l'action de l'invertine, il s'est fait un changement de 30° et une quantité de sucre réducteur de 22 g.,200, soit un indice de 740.

Dans la poudre utilisée par M. BRIDEL pour faire les préparations galéniques [6, p. 62], il s'était fait un changement de 29°6' et 19 g.,082 de sucre réducteur. L'action de l'invertine est donc sensiblement du même ordre dans les deux poudres. Mais l'action de l'émulsine est bien plus forte dans la poudre essayée actuellement que dans la poudre essayée en 1911. Sous l'action de ce produit fermentaire, le changement de rotation est ici de 15°36' au lieu de 7°38' et le sucre formé est de 7 g.,185 au lieu de 3 g.,434. Les indices sont tout à fait voisins : 460 et 449. Cela tient à ce que notre poudre contient plus de gentia-

nose 24g.,314 au lieu de 11 g.,620 et beaucoup moins de saccharose 3 g.,166 au lieu de 9 g.,561.

Le gentianose représente 85,63 p. 100 des sucres hydrolysables par l'invertine alors, que, dans la poudre essayée en 1911, il ne représentait que 54,86 p. 100. Le rapport $\frac{\text{gentianose}}{\text{saccharose}}$ qui était dans la racine fraîche de $\frac{7,671}{3,159} = 2,43$ a passé, pendant la dessiccation à $\frac{24,314}{3,166} = 7,67$. Il s'est donc très fortement modifié en faveur du gentianose.

Toutefois, si on calcule combien la quantité de racine sèche correspondant à 100 g. de racine fraîche, renferme de gentianose et de saccharose, on trouve 6 g.,778 de gentianose au lieu de 7 g.,671 et 0 g.,882 de saccharose au lieu de 3 g.,159. Il y a eu, au cours de la dessiccation, destruction d'une certaine quantité des sucres hydrolysables par l'invertine et cette destruction a porté principalement sur le saccharose dont la diminution est de 72,08 pour 100 alors que celle du gentianose est de 11,64 p. 100 seulement. L'augmentation du rapport $\frac{\text{gentianose}}{\text{saccharose}}$ est donc due à une forte disparition du saccharose.

TABLEAU IV.

Dosage du gentiopicroside.

	Epuisement par	
	l'alcool bouillant	Percolation à froid
Rotation ($l = 2$) :		
Initiale.....	— 22°42'	— 23°50'
Après action de l'émulsine.....	+ 2°14'	+ 2°33'
Sucre réducteur (pour 100 cm ³) :		
Initial.....	0,614	0,614
Après action de l'émulsine.....	3,578	3,887
Changement de rotation.....	24°56'	26°23'
Sucre réducteur formé.....	2,964	3,223
Indice.....	119	122
Gentiopicroside.....	5,859	6,371

En examinant ce Tableau, on voit que les quantités de sucre réducteur au départ sont identiques mais on constate qu'on obtient plus de gentiopicroside par percolation que par épuisement à chaud, puisqu'on a une différence de 0 g.,512.

Dans l'épuisement à l'alcool bouillant, pour un changement de rotation de $24^{\circ}56'$ il s'est fait 2 g.,964 de glucose : la poudre renferme donc 5 g.,859 de gentiopicroside pour 100 g. La poudre essayée en 1911, dont nous avons déjà parlé en contenait 5 g.,166.

En résumé, la poudre que nous avons à notre disposition renfermait une quantité de gentiopicroside moyenne, une quantité de saccharose très faible et une quantité de gentianose beaucoup plus forte que toutes les poudres analysées jusqu'ici.

On a ensuite abordé l'étude de la rapidité de dissolution des principes immédiats au cours de la percolation fractionnée à 70° . Pour cela on a effectué sur 500 g. de la même poudre de gentiane une percolation fractionnée de la façon suivante : 8 fractions de 250 cm³ sauf la 6^e qui était de 290 cm³ et écoulées toutes en 1 h. 15 soit en tout 2040 cm³ en 10 heures.

On a opéré pour chaque fraction comme pour les traitements à l'alcool bouillant ou la percolation totale, c'est-à-dire qu'on avait d'une part une solution glucosidique et d'autre part un extrait sucré.

On a dosé ainsi pour chaque fraction les sucres réducteurs, le saccharose, le gentianose et le gentiopicroside. On a également dosé le résidu sec à $+110^{\circ}$.

On a réuni dans le Tableau suivant les résultats obtenus pour le dosage des sucres et du gentiopicroside. Les chiffres représentent le poids des principes contenus dans le volume des fractions.

TABLEAU V.

*Dosage du sucre réducteur, du gentianose, du saccharose
et du gentiopicroside.*

Numéros	Volumes (en cm ³)	Sucre réducteur initial	Gentianose	Saccharose	Gentiopicroside
1	250	13,44	54,03	5,19	13,50
2	—	9,17	32,11	4,87	7,83
3	—	5,39	22,04	3,65	5,25
4	—	3,70	10,06	2,76	3,35
5	—	2,96	9,25	1,50	1,71
6	290	1,71	6,09	0,19	0,69
7	250	0,61	1,94	0,09	0,23
8	—	0,18	0,85	0,06	
Total. . .	2.040	37,16	136,37	18,31	32,56
Dans 500 g. de pou- dre (percolation totale).....		35,26	130,35	15,68	31,86

Le sucre réducteur initial donné dans le Tableau V est la somme du sucre réducteur initial de l'essai de l'extrait sucré et du sucre réducteur initial de l'essai de l'extrait glucosidique.

Le Tableau suivant donnera, en regard de la durée de percolation, la proportion p. 100 du gentianose, du saccharose et du gentiopicroside dissous.

TABLEAU VI.

Durée de la percolation		Gentianose dissous p. 100	Saccharose dissous p. 100	Gentiopicroside dissous p. 100
h. min.				
1	15	39,62	23,34	41,46
2	30	63,16	54,94	65,50
3	45	79,32	74,87	81,63
5		86,70	89,95	91,92
6	15	93,48	98,14	97,23
7	30	97,95	99,18	99,29
8	45	99,37	99,67	100,00
10		100,00	100,00	

En examinant les tableaux V et VI, on voit que la totalité du sucre réducteur initial, du gentianose, du saccharose se trouve en dissolution dans les 2.040 premiers centimètres cubes ; par contre il ne faut que 1.790 centimètres cubes pour que la totalité du gentiopicroside puisse passer en dissolution. On voit donc qu'avec l'alcool à 70° il n'est pas nécessaire d'employer en alcool 5 fois le poids de la poudre.

Les chiffres de la lixiviation fractionnée sont même supérieurs à ceux de la lixiviation totale, cela tient vraisemblablement, aux coefficients très élevés utilisés dans les calculs. Voici un exemple :

Soit la 1^{re} fraction de 250 cm³. On en distille 50 cm³ sous pression réduite. On redissout l'extrait dans 150 cm³ d'eau pour faire un essai biochimique et on défèque une prise d'essai de 20 cm³ par l'extrait de Saturne, on élimine l'excès de plomb par du sulfate de soude, soit en définitive, 20 cm³ amenés à 24 cm³. On a donc déjà un coefficient $18 \left(\frac{5 \times 3 \times 6}{5} \right)$. Mais, de plus, pour faire les dosages de sucre après l'action de l'émulsine, on opère sur 0 cm³,5 : les résultats étant ramenés à 100 cm³ de liquide, l'erreur est donc multipliée par 3600 et ainsi de suite pour chaque fraction.

On peut aussi remarquer que tous ces principes ne se dissolvent pas avec la même rapidité : le gentiopicroside se dissout le plus vite puisqu'il suffit de 8 h. 45 pour en dissoudre la totalité alors que, pour le saccharose et le gentianose, il faut 10 heures.

Dans la 1^{re} fraction, il passe 10 fois plus de gentianose que de saccharose, cela tient à la quantité considérable de gentianose contenue dans la poudre de gentiane séchée. En consultant les chiffres des Tableaux V et VI, on voit qu'en 2 h. 30, on obtient par percolation 22 g.,61 de sucre réducteur, soit 60,84 p. 100 ; 86 g.,14 de gentianose, soit 63,16 p. 100 ; 10 g.,06 de saccharose, soit 54,94 p. 100 et 21 g.,33 de gentiopicroside, soit 65,50 p. 100.

Cette rapidité de dissolution explique pourquoi le gentiopicroside et les sucres : gentianose et saccharose n'ont pas le temps d'être hydrolysés, l'un par la glucosidase β , et les autres par la sucrase contenues dans la poudre.

Ces diverses colatures ne contiennent pas que des sucres réducteurs, du gentianose, du saccharose et du gentiopicroside. On a déterminé le résidu sec à $+110^{\circ}$ et en retranchant le poids des glucides ci-dessus du poids du résidu sec, on a obtenu un chiffre qui représente la « substance extractive ».

TABEAU VII.

Fractions	Résidu sec total	Sucres réducteurs		Substance extractive	Substance extractive p. 100 du résidu sec
		Gentianose	Gentiopicroside		
1	87,37	86,17		1,20	1,37
2	61,28	53,98		7,30	11,91
3	46,35	36,33		10,02	21,61
4	31,81	19,87		11,94	37,53
5	26,81	15,42		11,39	42,48
6	16,31	8,68		7,63	46,78
7	6,11	2,87		3,24	53,02

On voit que la substance extractive p 100 du résidu sec, qui n'est que de 1,39 dans la première fraction, va en augmentant au fur et à mesure de la percolation pour former 53,02 p. 100 dans la 7^e fraction et on peut constater qu'ici ce n'est pas la substance extractive qui aide à la solubilisation des principes actifs puisque dans la première fraction il y a 1 g., 20 de substance extractive pour 86 g., 17 de principes immédiats et que, dans toutes les fractions sauf la 7^e, le poids de la substance extractive est inférieure au poids de principes immédiats extraits par percolation.

β) ALCOOL A 90° :

TABLEAU VIII.

Dosage du gentianose et du saccharose.

	Epuisement par	
	l'alcool bouillant	percolation à froid
Rotation ($l = 2$) :		
Initiale.....	+ 14°24'	+ 14°24'
Après action de l'invertine.....	— 15°24'	— 14°24'
— l'émulsine.....	+ 12'	+ 36'
Sucre réducteur (pour 100 cm ³) :		
Initial.....	5,994	5,592
Après action de l'invertine.....	27,996	26,643
— l'émulsine.....	35,164	33,476
Par l'invertine :		
Changement de rotation.....	29°48'	28°48'
Sucre réducteur formé.....	22,002	21,051
Indice.....	738	730
Par l'émulsine :		
Changement de rotation.....	15°36'	15°
Sucre réducteur formé.....	7,168	6,833
Indice.....	459	455
Gentianose.....	24,256	23,222
Saccharose.....	3,116	2,822

Si on compare les résultats obtenus par l'alcool à 90° bouillant et par l'alcool à 70° bouillant (voir p. 53), on voit qu'ils sont à peu près identiques. On trouve, avec l'alcool à 90°, un peu plus de sucre réducteur initial, 5 g.,994 au lieu de 5 g.,796 et un peu moins de gentianose, 24 g.,256 au lieu de 24 g.,314 et de saccharose 3 g.,116 au lieu de 3 g.,166.

L'épuisement par l'alcool à 90°, à l'ébullition, est donc aussi complet que par l'alcool à 70°, en ce qui concerne les sucres.

En comparant maintenant les chiffres du Tableau, on voit que par percolation rapide il ne s'est pas dissous la totalité de ces principes : il n'existe, en solution, que 5 g.,592 de sucre réducteur initial au lieu de 5 g.,994 : perte de 0 g.,402 soit 6,71 p. 100 ; 23 g.,222 de gentianose au lieu de 24 g.,256 : perte de 1 g.,034 soit 4,25 p. 100 ; 2 g.,822 de saccharose au lieu de 3 g.,416 : perte de 9,43 p. 100.

Il est curieux de constater que malgré la faible solubilité du gentianose dans l'alcool à 90°, on arrive à dissoudre en 24 heures 95,75 p. 100 de ce produit, par percolation, en employant 10 parties d'alcool pour une partie de poudre.

La solution ainsi obtenue renfermait 24 g.,25 de gentianose par litre, elle était sursaturée. Ainsi, par percolation rapide, on obtient à froid, une solution sursaturée de gentianose.

Comment expliquer que le gentianose puisse se dissoudre de cette façon ? Nous pensons que cela doit tenir à l'existence, dans la racine sèche d'un complexe plus soluble que le gentianose lui-même. Ce complexe serait peu stable puisque, par simple repos au laboratoire, sans variation de température, le gentianose a cristallisé dans la colature. On en a obtenu ainsi 10 g. pour 2 litres, c'est-à-dire, un peu plus du cinquième.

TABLEAU IX.

Dosage du gentiopicroside.

	Epuisement par	
	l'alcool bouillant	percolation à froid
Rotation ($l = 2$) :		
Initiale.....	— 22°34'	— 24°48'
Après action de l'émulsine.....	+ 2°14'	+ 2° 4'

Sucre réducteur (pour 100 cm³) :

Initial.	0,675	0,624
Après action de l'émulsine.	3,605	3,837
Changement de rotation	24°48'	26°52'
Sucre réducteur formé.	2,930	3,213
Indice.	118	119
Gentiopicroside.	5,792	6,352

On a obtenu, par épuisement à l'alcool à 90° bouillant, 5 g.,792 de gentiopicroside pour 100 g. de poudre, c'est-à-dire sensiblement la même quantité que par l'alcool à 70°, 5 g.,859. La différence est de 0 g.,067, soit 1,14 p. 100.

Par percolation, la quantité de gentiopicroside est nettement plus élevée, 6 g.,352 au lieu de 5 g.,792, soit 0 g.,560 représentant près de 10 p. 100. A quoi peut tenir une telle augmentation ?

On sait que le gentiopicroside est un glucoside à fonction lactone, qui s'altère facilement par oxydation, ainsi que M. TANRET l'a montré en 1905 [19]. Il est vraisemblable que, par traitement à l'alcool bouillant, une certaine quantité de glucoside se soit altérée et qu'on évite cette altération en utilisant, comme mode de dissolution, la percolation rapide à froid.

On a ensuite entrepris, comme pour l'alcool à 70°, une lixiviation fractionnée au moyen de l'alcool à 90° sur 500 g. de la même poudre de gentiane. Les 14 premières fractions sont de 250 cm³ sauf la 7° qui est de 270 et se sont toutes écoulées en 1 h.,15 min. Pour les autres, le Tableau X indique le fractionnement opéré.

TABLEAU X.

Numéros des fractions	Volume des fractions (en cm ³)	Durée d'écoulement
15	500	7 h.
16	250	1 h. 15
17	500	3 h. 30
18	220	4 h.

Soit en tout 4740 cm³ en 33 heures 15 minutes. On a opéré pour chaque fraction comme pour l'alcool à 70°.

On a réuni dans le tableau suivant les résultats obtenus pour le dosage des sucres et du gentiopicroside. Les chiffres représentent le poids des principes contenus dans le volume des fractions.

Le sucre réducteur initial du Tableau XI est la somme du sucre réducteur initial de l'essai de l'extrait sucré et du sucre réducteur initial de l'essai de l'extrait glucosidique.

TABLEAU XI.

Dosage du sucre réducteur, du gentianose, du saccharose et du gentiopicroside.

Numéros	Volumes (cm ³)	Sucre réducteur initial	Gentianose	Saccharose	Gentiopicroside
1	250	6,69	17,48	1,30	8,44
2	—	5,11	12,47	1,31	5,30
3	—	4,84	11,38	1,87	5,33
4	—	4,60	11,05	2,09	4,79
5	—	2,67	8,04	1,79	2,59
6	—	2,60	8,00	1,81	2,03
7	270	2,42	7,30	1,61	1,81
8	250	1,65	5,15	0,99	1,13
9	—	1,29	5,05	0,92	0,86
10	—	0,90	3,19	0,86	0,67
11	—	0,70	3,00	0,55	0,46
12	—	0,58	2,07	0,48	0,38
13	—	0,43	1,72	0,22	0,28
14	—	0,40	1,38	0,03	0,24
15	500	0,49	1,90	0,36	0,41
16	250	0,15	0,76	0,01	0,14
17	500	0,31	1,15	0,17	0,23
18	220	0,11	0,51	0,02	0,08
Total des 18 fractions.		35,94	101,70	16,32	35,17

Le tableau suivant donne en regard de la durée de percolation, la proportion pour 100 du gentianose, du saccharose et du gentiopicroside dissous,

Puisqu'on n'obtient pas tout le gentianose contenu dans la poudre par percolation au moyen de l'alcool à 90°, les calculs ont été faits sur la quantité de gentianose obtenue par lixiviation totale au moyen de l'alcool à 70°.

TABLEAU XII.

Durée de la percolation		Gentianose	Saccharose	Gentiopicroside
h. min.		dissous p. 100	dissous p. 100	dissous p. 100
1	15	13,41	7,93	23,99
2	30	22,97	15,92	39,06
3	45	31,70	27,33	54,22
5		40,18	40,08	67,84
6	15	46,35	51,00	75,20
7	30	52,48	62,05	80,97
8	45	58,08	71,87	86,12
10		62,04	77,91	89,33
11	15	65,91	83,52	91,78
12	30	68,36	88,77	93,68
13	45	70,66	92,12	94,99
15		72,25	95,05	96,07
16	15	73,57	96,40	96,87
17	30	74,62	97,19	97,55
24	30	76,08	98,77	98,72
25	45	76,67	98,84	99,11
29	15	77,55	99,87	99,77
33	45	77,94	100,00	100,00

En examinant les Tableaux XI et XII, on voit qu'en employant l'alcool à 90°, il faut lixivier pendant 33 h. 45 et utiliser en alcool environ 10 fois le poids du tourteau pour obtenir la totalité du sucre réducteur initial, du saccharose et du gentiopicroside contenue dans la poudre.

Par contre, on peut constater que, même dans ces conditions, tout le gentianose ne passe pas en solution.

De plus, il est très net que tous ces principes ne se dissolvent pas avec la même vitesse. Ainsi, en 2 h. 30, il passe en solution 11 g.,80 de sucre réducteur initial, soit 32,83 p. 100 ; 29 g.,95 de gentianose, soit 22,97 p. 100 ;

2 g.,61 de saccharose, soit 15,92 p. 100 et 13 g.,74 de gentiopicroside, soit 39,06 p. 100. Au début de la percolation, c'est donc le gentiopicroside qui se dissout le plus vite et le saccharose le moins vite.

En 10 heures, il s'est dissous 62,04 p. 100 de gentianose ; 77,91 p. 100 de saccharose et 89,33 de gentiopicroside. La proportion p. 100 de saccharose dissous est supérieure à la proportion p. 100 de gentianose dissous.

En 24 h. 30, les proportions p. 100 de saccharose et de gentiopicroside dissous sont les mêmes, 98,77 et 98,72. Par contre, il ne s'est dissous que 76,08 p. 100 du gentianose. En 33 h. 45, on n'aura que les 77,94 centièmes du gentianose existant dans la poudre.

On a ensuite déterminé, en suivant le même mode opératoire que pour l'alcool à 70°, le résidu sec total de chaque fraction.

TABLEAU XIII.

Fractions	Résidu sec total	Sucres réducteurs Gentianose Saccharose Gentiopicroside	Substance extractive	Substance extractive p. 100 du résidu sec
1	35,35	33,91	1,44	4,07
2	25,26	24,19	1,07	4,23
3	27,17	23,42	3,75	13,80
4	26,69	22,53	4,16	15,58
5	19,20	15,09	4,11	21,40
6	18,67	14,44	4,23	22,65
7	17,72	13,14	4,58	25,84
8	15,60	8,92	6,68	42,82
9	15,17	8,12	7,05	46,47
10	12,66	5,62	7,04	55,60
11	10,80	4,71	6,09	56,38
12	8,49	3,51	4,98	58,65
13	6,65	2,65	4,00	60,15
14	5,13	2,05	3,12	60,81
15	9,12	3,16	5,96	65,35
16	3,48	0,86	2,62	75,28
17	5,99	1,86	4,13	68,94
18	2,08	0,72	1,36	65,38

En examinant le Tableau XIII, on peut voir que la substance extractive p. 100 du résidu sec, qui n'est que de 4,07 dans la 1^{re} fraction, va en augmentant jusqu'à la 16^e fraction où elle est de 75,28 et on peut constater également ici que ce n'est pas la substance extractive qui aide à la solubilisation des principes actifs puisque dans la 1^{re} fraction il y a 1 g.,44 de substance extractive pour 33 g.,91 de principes immédiats. Ce n'est qu'à partir de la 10^e fraction que le poids de la substance extractive est supérieure au poids de principes immédiats dissous.

γ) ALCOOL A 95°.

TABLEAU XIV.

Dosage du gentianose et du saccharose.

	Epuisement par	
	l'alcool bouillant	percolation à froid
Rotation ($l = 2$) :		
Initiale	+ 14°12'	+ 7°48'
Après action de l'invertine.....	— 13°12'	— 5°24'
— l'émulsine.....	+ 24'	+ 18'
Sucre réducteur (pour 100 cm ³) :		
Initial.....	5,994	2,622
Après action de l'invertine.....	25,476	12,336
— l'émulsine	31,605	14,952
Par l'invertine :		
Changement de rotation.....	27°24'	13°12'
Sucre réducteur formé.....	19,842	9,706
Indice.....	711	735
Par l'émulsine :		
Changement de rotation.....	13°36'	5°42'
Sucre réducteur formé.....	6,129	2,616
Indice.....	450	458
Gentianose.....	20,740	8,852
Saccharose.....	3,208	2,695

Par l'alcool à 95° à l'ébullition, l'épuisement de la poudre n'est pas complet. On dissout la totalité du saccharose puisqu'on en a obtenu 3 g.,208 au lieu de 3 g.,166. Mais il reste une quantité assez importante de gentianose dans la poudre : on en a trouvé en solution 20 g.,740 au lieu de 24 g.,314, soit une perte de 3 g.,574 représentant 14,69 p. 100.

Nous allons voir que, par percolation, la perte est encore bien plus forte.

Par percolation rapide à froid, on a laissé dans la poudre une quantité très importante des sucres puisqu'on n'a trouvé dans la colature que 2 g.,622 de sucre réducteur initial au lieu de 5 g.,994, soit une perte de 3 g.,372 ; 2 g.,695 de saccharose au lieu de 3 g.,208, soit une perte de 0 g.,687 et 8 g.,852 de gentianose au lieu de 20 g.,740 ayant passé en solution à l'ébullition dans l'alcool à 95° et 24 g.,256 existant dans la poudre.

Ces pertes représentent 56,25 p. 100 du sucre réducteur initial, 21,41 p. 100 du saccharose et 57,28 p. 100 du gentianose dissous à chaud dans l'alcool à 95°, ou 63,50 p. 100 du gentianose existant dans la poudre, c'est-à-dire, près des deux tiers du gentianose existant dans la poudre.

Pour ce qui est du gentianose, la perte est donc considérable et s'explique par la presque insolubilité de ce sucre dans l'alcool à 95°.

Mais on voit que, malgré cela, la colature en renferme encore 8 g.,852 par litre. On retrouve donc, avec l'alcool à 95°, le fait qu'on a déjà observé avec l'alcool à 90° : formation à froid d'une solution sursaturée de gentianose.

La cristallisation du gentianose a lieu également avec cette colature et même plus rapidement encore que dans l'alcool à 90°. On en a obtenu environ la même quantité que dans ce dernier alcool.

TABEAU XV.

Dosage du gentiopicroside.

	Epuisement par	
	l'alcool bouillant	percolation à froid
Rotation ($l = 2$) :		
Initiale... ..	— 24°	— 14°14'
Après action de l'émulsine.....	+ 2°38'	+ 1°55'
Sucre réducteur (pour 100 cm ³):		
Initial.	0,675	0,432
Après action de l'émulsine.....	3,917	2,426
Changement de rotation.	26°38'	16°9'
Sucre réducteur formé.	3,242	1,994
Indice.....	121	123
Gentiopicroside.....	6,409	3,982

La quantité de gentiopicroside que l'on obtient par l'alcool bouillant est sensiblement la même que celle qu'on a obtenue par percolation avec l'alcool à 90°, 6 g.,409 au lieu de 6 g.,352. Il faudrait admettre que la destruction du gentiopicroside n'a pas lieu à l'ébullition dans l'alcool à 95°. Cet alcool serait le meilleur dissolvant pour obtenir, à chaud, la dissolution du gentiopicroside.

Par percolation, on obtient seulement 3 g.,982 de gentiopicroside au lieu de 6 g.,409 soit 62,12 p. 100. Il reste donc, dans la poudre, une quantité importante de gentiopicroside.

On a procédé avec l'alcool à 95° à une lixiviation fractionnée en opérant de la même façon, mais en prolongeant la lixiviation pendant 77 heures pour essayer d'obtenir la plus grande proportion de principes immédiats. Mais, au bout de 77 heures, le gentianose cristallisait encore dans la 26° fraction, en quelques heures. Il fut nécessaire de distiller au fur et à mesure de la percolation pour éviter la cristallisation presque immédiate du gentianose,

Les 14 premières fractions sont de 250 cm³ et se sont toutes écoulées en 1 h. 15.

Dans le Tableau XVI on trouve le mode de fractionnement pour la suite du traitement.

TABLEAU XVI

Numéros des fractions	Volume des fractions (en cm ³)	Durée d'écoulement
15	500	6 h. 30
16	250	1 h. 15
17	500	2 h. 30
18	»	»
19	»	»
20	»	»
21	»	»
22	»	»
23	190	9 h. 50
24	1.000	7 h. 50
25	»	6 h. 10
26	»	13 h.

Soit en tout 10.440 cm³ en 77 h. 5 min.

On a réuni dans le Tableau XVII les résultats obtenus pour le dosage des sucres et du gentiopicroside. Les chiffres représentent le poids des principes contenus dans le volume des fractions.

Le sucre réducteur initial du Tableau XVII est la somme du sucre réducteur initial de l'essai de l'extrait sucré et du sucre réducteur initial de l'essai de l'extrait glucosidique.

Le Tableau XVIII donne, en regard de la durée de percolation, la proportion p. 100 du gentianose, du saccharose, et du gentiopicroside dissous. Ce Tableau a été établi en prenant comme point de comparaison les quantités de gentianose, de saccharose et de gentiopicroside obtenus par lixiviation totale par l'alcool à 70°, puisque la totalité de ces trois principes ne se dissout pas par percolation

avec l'alcool à 95° en 77 heures et en employant en alcool un peu plus de 20 fois le poids du tourteau.

TABLEAU XVII.

Dosage du sucre réducteur, du gentianose, du saccharose et du gentiopicroside.

Numéros	Volumes (en cm ³)	Sucre réducteur initial	Gentianose	Saccharose	Gentiopi- croside
1	250	2,57	4,59	2,38	8,12
2	»	1,85	2,99	1,43	3,94
3	»	1,90	2,57	1,51	3,80
4	»	1,36	2,76	0,83	2,31
5	»	1,00	2,67	0,76	1,67
6	»	0,89	2,02	0,82	1,20
7	»	0,96	1,97	0,53	1,07
8	»	0,49	1,50	0,24	0,53
9	»	0,41	1,72	0,32	0,45
10	»	0,31	1,00	0,17	0,27
11	»	0,28	0,88	0,20	0,27
12	»	0,23	0,85	0,24	0,27
13	»	0,23	0,72	0,33	0,25
14	»	0,23	0,74	0,30	0,26
15	500	0,42	1,10	0,64	0,48
16	250	0,21	0,75	0,12	0,27
17	500	0,23	1,00	0,14	0,33
18	»	0,25	1,05	0,13	0,15
19	»	0,22	1,08	0,11	0,12
20	»	0,21	0,91	0,14	0,10
21	»	0,15	0,50	0,10	0,11
22	»	0,14	0,46	0,13	0,11
23	190	0,10	0,31	0,08	0,08
24	1000	0,21	0,83	0,09	0,19
25	»	0,25	0,63	0,14	0,21
26	»	0,18	0,56	0,04	0,19
Total des 26 frac- tions.....		15,28	36,16	11,94	26,75

TABLEAU XVIII.

Durée de la percolation h. min.	Gentianose dissous p. 100	Saccharose dissous p. 100	Gentiopicroside dissous p. 100
1 15	3,52	15,17	25,48
2 30	5,81	24,30	37,85
3 45	7,78	33,92	49,78
5	9,90	39,22	57,03
6 15	11,95	44,06	62,58
7 30	13,50	49,29	66,03
8 45	15,01	52,67	69,39
10	16,16	54,20	71,06
11 15	17,48	56,25	72,47
12 30	18,25	57,33	73,32
13 45	18,92	58,60	74,16
15	19,57	60,14	75,01
16 15	20,13	62,24	75,80
17 30	20,69	64,15	76,61
24	21,54	68,23	78,12
25 15	22,11	69,00	78,97
27 45	22,88	69,89	80,00
30 15	23,69	70,72	80,47
32 45	24,51	71,42	80,85
35 15	25,21	72,32	81,16
37 45	25,60	72,95	81,51
40 15	25,95	73,78	81,85
50 5	26,19	74,29	82,10
57 55	26,82	74,87	82,70
64 5	27,31	75,76	83,36
77 5	27,74	76,02	83,96

Tous ces principes ne se dissolvent pas avec la même vitesse. En 2 h. 30, il passe en solution 4 g.,42 de sucre réducteur initial, soit 28,92 p. 100 ; 7 g.,58 de gentianose soit 5,81 p. 100 ; 3 g.,81 de saccharose soit 24,30 p. 100. et 12 g.,06 de gentiopicroside soit 37,85 p. 100. On voit, en examinant ces deux tableaux, que le gentianose, très peu soluble dans l'alcool à 95° est le principe actif qui se dissout le moins vite et que le gentiopicroside se dissout le plus vite puisque même en 1 h. 15, on en a déjà dissous

8 g, 12 c'est-à-dire 25,48 p. 100 de la totalité du gentiopicroside contenue dans la poudre.

TABLEAU XIX.

Fractions.	Résidu sec total	Sucres réducteurs Gentianose Saccharose Gentiopicroside	Substance extractive	Substance extractive p. 100 du résidu sec
1	13,65	17,66	0,89	4,79
2	11,58	10,21	1,37	11,83
3	11,24	9,78	1,46	12,98
4	9,19	7,26	1,93	21
5	8,41	6,10	2,31	27,46
6	6,85	4,93	1,92	28,02
7	6,78	4,53	2,25	33,18
8	5,06	2,76	2,30	45,45
9	5,22	2,90	2,32	44,44
10	4,20	1,75	2,45	58,33
11	4,25	1,63	2,62	61,64
12	4,41	1,59	2,82	63,94
13	4,30	1,53	2,77	64,42
14	4,34	1,53	2,81	64,74
15	7,82	2,64	5,18	66,24
16	4,32	1,35	2,97	68,75
17	5,83	1,70	4,13	70,84
18	5,80	1,58	4,22	72,75
19	5,67	1,53	4,14	73,01
20	5,48	1,36	4,12	75,18
21	4,87	0,86	4,01	83,34
22	4,84	0,84	4,00	82,64
23	1,61	0,57	1,04	64,59
24	5,44	1,32	4,12	75,73
25	5,30	1,23	4,07	76,79
26	5,22	0,93	4,25	81,41

En 10 heures environ, la moitié du saccharose (54,20 p. 100) et les deux tiers du gentiopicroside (71,06 p. 100) sont passés en solution. Par contre on n'a que 16,16 p. 100 du gentianose. En 24 heures, on n'a encore obtenu que 21,54 p. 100 du gentianose ; 64,15 p. 100 du saccharose et

76,61 p. 100 du gentiopicroside. En 77 heures, on n'aura que 27,74 p. 100 du gentianose ; 76,02 p. 100 du saccharose et 83,96 p. 100 du gentiopicroside. On avait alors utilisé en alcool 20 fois le poids de la poudre.

On a également déterminé, comme pour les expériences au moyen de l'alcool à 70° et à 90° les résidus secs de chaque fraction à + 110° (Tableau XIX):

On voit que la substance extractive p. 100 du résidu sec augmente au fur et à mesure de la percolation. Elle représente 4,79 p. 100 dans la 1^{re} fraction, et, dans la 26^e fraction, elle forme 81,41 p. 100 du résidu sec. De nouveau, on peut constater que la substance extractive n'aide pas à la solubilisation des principes actifs puisque dans la 1^{re} fraction il y a 0 g.,89 de substance extractive pour 17 g.,66 de principes actifs solubilisés. Ce n'est qu'à partir de la 10^e fraction que le poids de la substance extractive est supérieure au poids des principes immédiats dissous.

3^e Préparation du gentianose à partir de la racine sèche.

La préparation du gentianose en partant de la poudre de gentiane séchée à l'air sans fermentation découle des expériences précédentes. Avec une poudre de gentiane riche en gentianose comme celle dont nous disposons, il suffit d'opérer par percolation rapide, soit avec l'alcool à 90° en recueillant 10 parties de colature pour une partie de poudre, soit avec l'alcool à 95° en prolongeant la percolation de façon à recueillir au moins 20 parties de colature pour une partie de poudre. On laisse ensuite cristalliser. Avec l'alcool à 95°, la cristallisation commence très rapidement dans les 24 heures, si on a soin de recueillir la colature par fractions séparées de 500 cm³, par exemple.

Avec l'alcool à 90°, la cristallisation est plus lente.

Le produit cristallisé est recueilli. et, pour l'avoir pur, il suffit d'une seule cristallisation dans l'alcool à 80°.

En opérant ainsi, on a extrait facilement 50 gr. de gentianose pur par kilogramme de poudre.

Le gentianose a été identifié par son point de fusion, son pouvoir rotatoire, l'hydrolyse par l'invertine et la détermination de son indice de réduction par ce ferment.

Il fondait à + 206°. BOURQUELOT et HÉRISSEY indiquent + 207°-209° ; son pouvoir rotatoire a été déterminé en solution aqueuse :

$$\alpha_D = + 31^{\circ},5 ; p = 3,2240 ; \nu = 100 ; l = 2 ; \alpha = + 2^{\circ}2'$$

A la solution ayant servi à déterminer le pouvoir rotatoire, on ajoute 0 g.,60 d'invertine. En deux jours, la rotation a passé de + 2°2' à - 1°30' soit un changement de 3°32'. La solution, qui n'était pas réductrice avant l'action de l'invertine, renfermait alors, pour 100 cm³, 2 g.,408 de sucre réducteur, exprimé en glucose.

L'indice de réduction est de 681 (Théorie 673).

L'hydrolyse complète aurait fourni 2 g.,501 de sucre réducteur. On avait donc bien affaire à du gentianose pur.

4° Conclusions.

La racine fraîche de gentiane étudiée était caractéristique par la forte proportion de gentianose qu'elle renfermait. Le gentianose formait 70,83 p. 100 des sucres hydrolysables par l'invertine alors que dans les racines de gentianose étudiées en 1911 par M. BRIDEL, la proportion était 64,58 en septembre, 44,89 en octobre et 49,59 p. 100 en novembre.

Après dessiccation le gentianose formait 85,63 p. 100 des sucres hydrolysables par l'invertine. En 1911, il n'y en avait que 54,86 p. 100.

Le rapport $\frac{\text{gentianose}}{\text{saccharose}} = 2,43$ dans la racine fraîche devenait 7,67 dans la poudre. Cette augmentation de gentianose est due à une forte disparition de saccharose.

La poudre renfermait donc une quantité de gentiopicroside moyenne, une quantité de saccharose très faible, une quantité de gentianose beaucoup plus forte que toutes les poudres analysées jusqu'ici.

Les résultats des expériences faites sur cette poudre à l'aide des alcools à 70°, 90° et 95° peuvent se résumer ainsi :

1° *Alcool à 70°*. — On obtient plus de gentiopicroside et plus de gentianose par percolation à froid que par épuisement à l'alcool bouillant. La quantité de saccharose est sensiblement la même dans les deux cas.

L'alcool à 70° est le meilleur dissolvant pour opérer une percolation rapide à froid puisqu'il suffit de 2040 cm³ écoulés en 10 heures pour avoir la totalité des sucres et 1790 cm³ écoulés en 8 h. 45 pour avoir la totalité du gentiopicroside contenus dans 500 g. de poudre, c'est-à-dire quand on a utilisé en alcool environ 4 fois le poids de la poudre. Le gentiopicroside est le principe immédiat qui se dissout le plus rapidement.

En 1 h. 15, on a 39,62 p. 100 du gentianose, 23,34 p. 100 du saccharose et 41,46 p. 100 du gentiopicroside.

2° *Alcool à 90°*. — L'épuisement à l'alcool bouillant est sensiblement le même avec l'alcool à 70° et l'alcool à 90°.

Par percolation, la totalité des principes ne se dissolvent pas. Il y a une perte de 4,25 p. 100 de gentianose et 9,43 p. 100 de saccharose. On a par contre une augmentation de 10 p. 100 de gentiopicroside. On évite par percolation à froid une altération du gentiopicroside, glucoside à fonction lactone et facilement altérable par oxydation.

On obtient par percolation une solution sursaturée de

gentianose, solution qui le laisse bientôt cristalliser. Cette dissolution inattendue du gentianose dans l'alcool à 90° pourrait tenir à l'existence, dans la racine sèche, d'un complexe plus soluble que le gentianose lui-même et peu stable puisqu'il se détruit en laissant le gentianose cristalliser dans la colature.

Cependant, en 33 heures, tout le gentianose contenu dans la poudre n'a pas passé en solution. On n'obtient que 77,94 p. 100 du gentianose après avoir utilisé 4740 cm³, c'est-à-dire presque 10 fois le poids de la poudre.

3° *Alcool à 95°*. — Par épuisement à l'alcool bouillant, on dissout la totalité du saccharose, mais il reste une quantité importante de gentianose dans la poudre. On a une perte de 14,69 p. 100. La quantité de gentiopicroside obtenue est très légèrement supérieure à celle obtenue par l'alcool à 90°, 6 g.,409 au lieu de 6 g.,352. Cet alcool serait donc à chaud le meilleur dissolvant du gentiopicroside.

Par percolation, la perte en gentianose est beaucoup plus forte, elle est de 63,50 p. 100. On constate de plus une perte en saccharose de 21,41 p. 100 et une perte en gentiopicroside de 37,88 p. 100.

Le gentianose étant moins soluble dans l'alcool à 95° que dans l'alcool à 90° cristallise plus rapidement. En quelques heures, on obtient des cristaux adhérant fortement aux parois du flacon contenant la colature. En 77 heures et en employant plus de 20 fois le poids de la poudre, on n'obtient que 27,74 p. 100 du gentianose; 76,02 du saccharose et 83,96 p. 100 du gentiopicroside.

CHAPITRE IV.

Conclusions.

Les expériences effectuées avec l'alcool à 60° et à 70° viennent confirmer les conclusions de M. BRIDEL et Mlle G. BAREL sur la dissolution rapide des principes immédiats au cours de la percolation.

1° *Tourteau d'amande amère.* — Les principes immédiats, les sucres et le glucoside se dissolvent très vite dans l'alcool à 70° au cours de la percolation rapide.

a) *Percolation de 0 kg., 500 de tourteau d'amande amère.* — La saccharose passe entièrement en solution dans les 9 premières heures de l'opération et il faut 12 heures et demie pour extraire la totalité de l'amygdaloside.

En utilisant ce procédé de percolation rapide, il est facile d'extraire du tourteau le saccharose et l'amygdaloside non hydrolysés par les ferments.

Bien plus, ces mêmes ferments ne sont pas altérés par l'alcool et on peut extraire alors du résidu épuisé par l'alcool une émulsine possédant sensiblement les mêmes propriétés que l'émulsine extraite des amandes douces.

b) *Percolation de 6 kg de tourteau d'amande amère.* — Le saccharose passe entièrement en solution en 23 h. 30 et il faut 26 h. 30 pour extraire la totalité de l'amygdalosite. Etant données la forte quantité de tourteau et la hauteur de la colonne de poudre à traverser, le temps de contact de l'alcool avec le tourteau est plus long que dans le premier cas et on constate une légère hydrolyse de l'amygdalosite, soit une perte de 12,37 p. 100.

Le tourteau étudié dans ce mémoire fournit la même quantité d'émulsine que les amandes douces : 14 g par kilogramme, mais il coûte 6 à 7 fois moins que ces dernières et il peut fournir en outre 30 g. d'amygdalosite par kilogramme.

Ces rendements en amygdalosite et émulsine sont variables avec les tourteaux étudiés.

2° *Tourteau de coton.* — En appliquant au tourteau de coton le procédé de percolation rapide, on dissout très vite dans l'alcool à 60° le raffinose que contient ce tourteau. En opérant sur 0 kg.,500 de tourteau renfermant 36 g.,464 de raffinose, 54,23 p. 100 du raffinose passent en solution en une heure trois quarts dans 250 cm³ de liquide. En 5 heures, il s'en dissout 92,93 p. 100 et la dissolution est totale en 10 heures.

Dans les deux premières fractions, le raffinose représente plus de 50 p. 100 du résidu sec, puis la « substance extractive » augmente progressivement et passe de 55,37 p. 100 dans la 3^e fraction à 82,30 p. 100 dans la 6^e. En tenant compte de ces faits, on a donné un procédé de préparation du raffinose qui permet d'en obtenir 3,3 p. 100 du poids du tourteau. Ce procédé est très simple et n'exige, en dehors des appareils ordinaires, qu'un percolateur et un alambic.

3° Poudre de gentiane séchée à l'air sans fermentation. — La poudre de gentiane étudiée renfermait une quantité de gentiopicroside moyenne, une quantité de saccharose très faible, une quantité de gentianose beaucoup plus forte que toutes les poudres analysées jusqu'ici.

On a constaté que l'alcool à 70° est le meilleur dissolvant pour opérer une percolation rapide à froid puisque le gentiopicroside passe en 8 h. 45 et la totalité des sucres en 10 heures. En 1 h. 15, on a 39,62 p. 100 du gentianose, 23,34 p. 100 du saccharose et 41,46 p. 100 du gentiopicroside.

Une percolation par l'alcool à 90° ne permet pas de dissoudre la totalité des principes. On a une perte de 4,25 p. 100 de gentianose et 9,43 p. 100 de saccharose. On a, par contre, une augmentation de 10 p. 100 de gentiopicroside. On évite par percolation à froid, une altération du gentiopicroside, glucoside à fonction lactone et facilement altérable par oxydation.

En 33 heures, tout le gentianose contenu dans la poudre n'a pas passé en solution. On n'en obtient que 77,94 p. 100.

Une percolation par l'alcool à 95° ne permet pas, non plus, de dissoudre la totalité des principes. On constate une perte en gentianose de 63,50 p. 100, une perte en saccharose de 21,41 p. 100 et une perte en gentiopicroside de 37,88 p. 100.

En 77 heures, on ne dissout que 27,74 p. 100 du gentianose ; 76,02 p. 100 du saccharose et 83,96 p. 100 du gentiopicroside.

En utilisant ce procédé de percolation rapide, il est facile d'extraire du gentianose cristallisé. On obtient par percolation dans l'alcool à 90° et à 95° une solution sursaturée de gentianose, solution qui le laisse bientôt cristalliser. La cristallisation est plus rapide dans l'alcool à 95°

que dans l'alcool à 90°. Cette dissolution inattendue du gentianose dans l'alcool à 95° et à 90° pourrait tenir à l'existence, dans la racine sèche, d'un complexe plus soluble que le gentianose lui-même et peu stable puisqu'il se détruit en laissant le gentianose cristalliser dans la colature.

Vu, bon à imprimer :

Le Président de la Thèse,

BOUGAULT.

Vu :

Le Doyen de la Faculté,

M. RADAIS.

Vu et permis d'imprimer :

Le Recteur de l'Académie de Paris,

S. CHARLÉTY.

BIBLIOGRAPHIE.

1. Mlle G. BAREL — De la préparation, par percolation, de quelques extraits et teintures de la Pharmacopée française. *Thèse Doct. Univ. (Pharmacie)*, Paris, 1925.
2. Em. BOURQUELOT et M. BRIDEL. — De l'influence du mode de dessiccation sur la composition de la racine de gentiane. Préparation de la gentiopicroïne en partant de la racine sèche. *Journ. de Pharm. et de Chim.*, 1910, 7^e série, 1, 156.
3. Em. BOURQUELOT et M. BRIDEL. — Obtention biochimique du sucre de canne à partir du gentianose. *Journ. de Pharm. et de Chim.*, 1920, 7^e série, 22, 241.
4. Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY. — Sur la constitution du gentianose. *Journ. de Pharm. et de Chim.*, 1901, 6^e série, 13, 305.
5. Em. BOURQUELOT et H. HÉRISSEY. — Sur le gentiobiose cristallisé. *Journ. de Pharm. et de Chim.*, 1902, 6^e série, 16, 417.
6. M. BRIDEL. — Application de la méthode biochimique à une nouvelle étude des préparations galéniques de la racine de gentiane. *Thèse Doct. Univers (Pharmacie)*, Paris, 1911.
7. M. BRIDEL. — Sur la présence de notables quantités de sucre de canne dans la racine de gentiane séchée à l'air sans fermentation. *Journ. de Pharm. et de Chim.*, 1911, 7^e série, 4, 455.

8. M. BRIDEL. — De l'influence du degré alcoolique et du mode de préparation (macération ou lixiviation) sur la teneur en principes immédiats de la teinture de gentiane préparée avec une racine non fermentée. *Journ. de Pharm. et de Chim.*, 1911, 7^e série, 4, 545.
 9. M. BRIDEL. — Recherches sur les sucres et les glucosides des Gentianées. *Thèse Doct. ès Sciences*, Paris, 1913.
 10. M. BRIDEL et Mlle G. BAREL. — La durée de la percolation peut être considérablement diminuée. *Journ. de Pharm. et de Chim.*, 1925, 8^e série, 1, 49.
 11. M. BRIDEL et Mlle M. DESMAREST. — Recherches sur la percolation. Sur la rapidité de dissolution des principes immédiats au cours de la percolation. I. Tourteau d'amande amère. *Journ. de Pharm. et de Chim.*, 1928, 8^e série, 7, 153 et 201.
 12. M. BRIDEL et Mlle M. DESMAREST. — II. Tourteau de coton. *Journ. de Pharm. et de Chim.*, 1928, 7^e série, 7, 433.
 13. CLARKS (d'après ENGLER, DECKER et ADAMS). *Bureau of Standard Sc. Papers*, 1922, 432.
 14. ENGLER, DECKER et ADAMS. — The preparation of raffinose from cotton seed meal. *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1925, 47, 2724.
 15. HARDING (d'après Abs., 1923, 1^{re} série, 124, 898).
 16. HUDSON et HARDING. — The preparation of raffinose. *Journ. Amer. Chem. Soc.*, 1914, 36, 2110.
 17. A. MEYER. — Ueber Gentianose. *Zeitsch. für physiol. Chem.*, 1882, 6, 135.
 18. H. RITTHAUSEN. — Ueber melitose aus Baumwollsaamen. *Journ. für prakt. Chem.*, 1884, 2^e série, 29, 351.
 19. G. TANRET. — Contribution à l'étude de la gentiane. *Thèse Doct. Méd.*, Paris, 1905.
 10. ZITKOWSKI (d'après HUDSON et HARDING). — *Amer. Sugar Industry*, sept. 1910, 324.
-

TABLE DES MATIÈRES.

	Pages
INTRODUCTION.....	9
CHAPITRE PREMIER. — Tourteau d'amande amère :	
1° Lixiviation sur 500 gr. de tourteau.....	13
2° Lixiviation sur 6 kg de tourteau.....	28
CHAPITRE II. — Tourteau de coton.....	33
CHAPITRE III. Poudre de gentiane séchée sans fermentation :	
1° Composition de la racine fraîche de gentiane	49
2° Composition de la racine séchée à l'air sans fermentation.....	52
3° Préparation du gentianose à partir de la racine sèche.....	73
4° Conclusions.....	74
CHAPITRE IV. — Conclusions.....	77

IMPRIMERIE ET LITHOGRAPHIE L. DECLUME, LONS-LE-SAUNIER.
